

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 06/12/2019.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO MESQUITA FILHO”

FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS

CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP - CAUNESP



**Atividade *in vitro* de óleos essenciais contra
Neoechynorhynchus buttnerae de tambaqui e seus
efeitos no hospedeiro**

Discente: Rodrigo Eduardo Goulart Salaro

Orientadora: Prof. Dra. Fabiana Pilarski

Jaboticabal – São Paulo

2018

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO MESQUITA FILHO”

FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS

CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP - CAUNESP

**Atividade *in vitro* de óleos essenciais contra
Neoechynorhynchus buttnerae de tambaqui e seus
efeitos no hospedeiro**

Discente: Rodrigo Eduardo Goulart Salaro

Orientadora: Prof. Dra. Fabiana Pilarski

Dissertação apresentada ao programa de pós-graduação em Aquicultura, do Centro de Aquicultura da Unesp, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Aquicultura.

Jaboticabal – São Paulo

2018

S159a Salaro, Rodrigo Eduardo Goulart
Atividade *in vitro* de óleos essenciais contra *Neoechynorhynchus buttnerae* de tabaqui e seus efeitos no hospedeiro / Rodrigo Eduardo Goulart Salaro. -- Jaboticabal, 2018
x, 65p. : il. ; 29 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista,
Centro de Aquicultura da Unesp, 2018
Orientadora: Fabiana Pilarski
Banca examinadora: Estevam Guilherme Lux Hoppe, Ricardo
Massato Takemoto.
Bibliografia

1. *Neoechynorhynchus buttnerae*. 2. Fitoterápico. 3. Eficácia. 4.
Aquicultura I. Título. II. Jaboticabal-Centro de Aquicultura da Unesp.

CDU 639.3.09

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação –
Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.

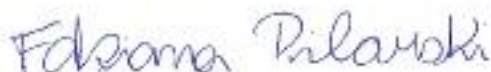
CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: Atividade in vitro de óleos essenciais contra *neoechinorhynchus buttnerae* de tambaqui e seus efeitos no hospedeiro

AUTOR: RODRIGO EDUARDO GOULART SALARO

ORIENTADORA: FABIANA PILARSKI

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em AQUICULTURA, pela Comissão Examinadora:



Profa. Dra. FABIANA PILARSKI

Laboratório de Microbiologia e Parasitologia de Organismos Aquáticos / Centro de Aquicultura - CAUNESP



Prof. Dr. ESTEVAM GUILHERME LUX HOPPE

Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal / FCAV / UNESP / Jaboticabal



Professor Assistente Doutor RICARDO MASSATO TAKEMOTO

NUPÉLIA - Laboratório Ictioparasitologia / UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ

Jaboticabal, 06 de junho de 2018.

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus pais, que sempre me incentivaram nos estudos.

À minha esposa e meus enteados, pela compreensão pelos dias e horas que estive ausente me dedicando a este trabalho.

À Dra. Fabiana Pilarski, minha orientadora, pela confiança em mim depositada, pela ajuda e atenção dispensada durante esse período.

Aos meus amigos do Laboratório de Microbiologia e Parasitologia de Organismos Aquáticos, do Centro de Aquicultura da UNESP, Lindomar, Inácio, Raphael, Suzana, Fernando, Gustavo, Silvia e Thiago, que não só me ajudaram na execução deste trabalho, como foram minha família na cidade de Jaboticabal.

Ao Centro Estadual de Educação Tecnológica Paula Souza, por me conceder afastamento de minhas funções como docentes na instituição a fim de aprimorar meus conhecimentos.

A toda a equipe da ETEC Orlando Quagliato, em especial a direção por fazer tudo o que estivesse ao seu alcance para que eu pudesse cursar o Mestrado.

À Trouw Nutrition por viabilizar os custos com o transporte dos peixes de Rondônia até Jaboticabal, o que permitiu a realização deste estudo.

Ao piscicultor Édson Sápiras, de Ariquemes, RO, pela doação dos peixes, sem os quais não seria possível a realização deste experimento.

ÍNDICE

Índice de figuras	i
Índice de tabelas	ii
Resumo	8
Abstract	9
1 Introdução.....	10
2 Revisão de Literatura	12
2.1 A criação de tambaqui (<i>Colossoma macropomum</i>)	12
2.2 Doenças parasitárias do tambaqui e seus híbridos	14
2.3 Parasitismo por acantocéfalo	17
2.4 Fitoterápicos no tratamento de doenças em peixes	20
2.4.1 Tomilho (<i>Thymus vulgaris</i>)	21
2.4.2 Alho (<i>Allium sativum</i>)	22
2.4.3 Melaleuca (<i>Melaleuca alternifolia</i>)	23
2.4.4 Manjerição (<i>Ocimum basilicum</i>)	24
2.4.5 Hortelã pimenta (<i>Mentha piperita</i>)	24
3 Objetivos	29
3.1 Objetivos gerais	29
3.2 Objetivos específicos	29
4 Materiais e métodos	29
4.1 Peixes	29
4.2 Coleta dos parasitos	30
4.3 Identificação dos parasitos	31
4.4 Óleos essenciais	31
4.5 Ensaio <i>in vitro</i>	32

4.6 Ensaio <i>in vivo</i>	33
4.6.1 Desenho experimental.....	33
4.6.2 Colheita sanguínea.....	34
4.6.3 Análises hematológicas.....	34
5 Análise estatística	35
5.1 Ensaio <i>in vitro</i>	35
5.2 Ensaio <i>in vivo</i>	35
6 Resultados.....	36
6.1 Análise dos óleos essenciais	36
6.2 Identificação dos parasitos	39
6.3 Índices parasitários	40
6.4 Ensaio <i>in vitro</i>	40
6.5 Ensaio <i>in vivo</i>	44
7 Discussão.....	46
8 Referências	52

Índice de Figuras

Figura 1. Ciclo de vida de <i>Neoechynorhynchus buttnerae</i>	18
Figura 2: Microfotografia de <i>Neoechynorhynchus buttnerae</i> evidenciando a probóscide provida de ganchos grandes, médios e pequenos	39
Figura 3: Microfotografia da região posterior de <i>Neoechynorhynchus buttnerae</i> mostrando posição do poro genital subterminal na fêmea e terminal no macho	40
Figura 4: Sobrevivência média dos acantocéfalos expostos aos O.E.s de <i>A. sativum</i> , <i>M. alternifolia</i> , <i>M. piperita</i> , <i>O. basilicum</i> e <i>T. vulgaris</i> , contra <i>N. buttnerae</i> na concentração de 50mg/L	41
Figura 5: Sobrevivência média dos acantocéfalos expostos aos O.E.s de <i>A. sativum</i> , <i>M. alternifolia</i> , <i>M. piperita</i> , <i>O. basilicum</i> e <i>T. vulgaris</i> , contra <i>N. buttnerae</i> na concentração de 100mg/L	42
Figura 6: Sobrevivência média dos acantocéfalos expostos aos O.E.s de <i>A. sativum</i> , <i>M. alternifolia</i> , <i>M. piperita</i> , <i>O. basilicum</i> e <i>T. vulgaris</i> , contra <i>N. buttnerae</i> na concentração de 200mg/L	43
Figura 7: Sobrevivência média dos acantocéfalos expostos aos O.E.s de <i>A. sativum</i> , <i>M. alternifolia</i> , <i>M. piperita</i> , <i>O. basilicum</i> e <i>T. vulgaris</i> , contra <i>N. buttnerae</i> na concentração de 400mg/L	43

Índice de Tabelas

Tabela 1. Fitoterápicos no controle de patógenos de peixes.....	26
Tabela 2. Composição centesimal dos óleos essenciais de <i>A. sativum</i> , <i>O. basilicum</i> , <i>M. alternifolia</i> , <i>M. piperita</i> e <i>T. vulgaris</i>	37
Tabela 3. Parâmetros hematológicos de tambaqui alimentado com diferentes concentrações de óleo essencial de tomilho (<i>T. vulgaris</i>) durante 15 dias.....	44
Tabela 4. Parâmetros bioquímicos de tambaqui alimentado com dieta contendo diferentes concentrações de óleo essencial de tomilho (<i>T. vulgaris</i>) durante 15 dias.	45

RESUMO

O tambaqui é uma espécie nativa do Brasil, cuja criação tem se intensificado nos últimos anos, especialmente na região norte do país. Juntamente com essa intensificação, as parasitoses vêm crescendo, sendo *Neoechynorhynchus buttnerae* um endoparasita que tem impactado fortemente a atividade. Substâncias registradas para outras finalidades e espécies têm sido amplamente utilizadas na tentativa de controlar o problema, com consequências potencialmente negativas para o meio ambiente, à saúde humana e animal. Neste contexto, o uso de fitoterápicos representa um recurso no controle da parasitose por *N. buttnerae*. Assim, este trabalho avaliou a eficácia antiparasitária *in vitro* dos óleos essenciais (OE) de *Mentha piperita*, *Melaleuca alternifolia*, *Ocimum basilicum*, *Thymus vulgaris* e *Allium sativum* contra *N. buttnerae* de tambaqui. As concentrações testadas para cada óleo foram 50mg/L, 100mg/L, 200mg/L e 400mg/L, e a morte dos parasitos avaliada a cada 15 minutos durante duas horas. Adicionalmente, analisou-se o efeito da inclusão de OE de *T. vulgaris* à ração, nos níveis de 1%, 2%, e 3%, durante 15 dias, sobre a saúde dos peixes. Os resultados demonstraram que o *T. Vulgaris* foi o mais eficaz contra acantocéfalos entre os compostos testados, e não provocou alterações hematológicas ou bioquímicas nos peixes. Assim, o OE de *Thymus vulgaris* pode ser considerado promissor na prevenção e no tratamento de acantocéfalos em tambaqui.

Palavras chave: *Colossoma macropomum*, Acanthocephala, fitoterápico, anti-helmíntico, aquicultura

ABSTRACT

Tambaqui is a native Brazilian specie that the production has intensified in years, especially in the north region. Along with this intensification, the parasitosis have been growing, being *Neoechynorhynchus buttnerae*, an endoparasite that has strongly impacted the activity. Substances registered for other purposes and species have been widely used, with potentially negative consequences for the environment, human, and animal health. In this context, the use of phytotherapics represents a resource in the control of *N. buttnerae* parasitosis. This work evaluated the in vitro antiparasitic efficacy of essential oils (EO) of *Mentha piperita*, *Melaleuca alternifolia*, *Ocimum basilicum*, *Thymus vulgaris* and *Allium sativum* against *N. buttnerae* in tambaqui. The concentrations tested of each oil were 50mg/L, 100mg/L, 200mg/L and 400mg/L, and the parasite death was evaluated every 15 minutes for two hours. Additionally, the effect of inclusion of *T. vulgaris* EO on the diet at 1%, 2%, and 3% for 15 days on fish health was analyzed. The results showed that *T. vulgaris* was the most effective against acanthocephans among the tested compounds and did not cause hematological or biochemical changes in fish. Thus, *Thymus vulgaris* OE may be considered promising in the prevention and the treatment against acanthocephalosis in tambaqui

Keywords: *Colossoma macropomum*, Acanthocephala, phytotherapics, antihelmintic, aquaculture.

1. INTRODUÇÃO

A pesca e a aquicultura constituem uma importante fonte de alimentos para milhões de pessoas no mundo. O suprimento de pescado alcançou o recorde de 20kg por habitante no ano de 2014, devido ao crescimento da aquicultura mundial (FAO, 2016).

Em 2016, a produção aquícola brasileira gerou uma receita de R\$ 3,26 bilhões, um crescimento de 4,94% em volume e 1,88% em valor, quando comparado a 2015, referente à produção de 507.122.920 toneladas de peixes. A produção de tilápia é responsável por quase metade desse montante (239.090.927 toneladas), seguida do tambaqui, a espécie nativa mais produzida no Brasil, com produção de 136.991.478 toneladas (27%), seguida pelos híbridos tambacu (*Colossoma macropomum* x *Piaractus mesopotamicus*) e tambatinga (*Colossoma macropomum* x *Piaractus brachypomus*), com produção de 44.948,272 mil toneladas (8,9%) (IBGE, 2016).

Com a intensificação da produção e falhas no manejo produtivo, o número de doenças, principalmente de origem parasitária que acometem o tambaqui cresceu consideravelmente, causando prejuízos e entraves na cadeia produtiva.

Dentre os parasitos que acometem o tambaqui, os protozoários, crustáceos e helmintos estão entre os mais importantes. Os acantocéfalos, endoparasitos com ciclo de vida complexo, vem merecendo destaque recentemente, ocasionado grandes perdas na produção de tambaqui na região norte do Brasil (Amazonas, Rondônia e Amapá) (MACIEL et al., 2009; SILVA et al., 2013; DIAS et al., 2015).

Embora tenha se considerado que a ocorrência do parasitismo por acantocéfalos frequentemente não provoque alterações graves em seus

hospedeiros, em condições de criação, as infestações podem ser altas e os danos severos, podendo inclusive levar o hospedeiro à morte (PAVANELLI et al., 2013).

Até o momento, sabe-se que apenas uma espécie de acantocéfalo parasita o tambaqui, *Neoechinorhynchus buttnerae* Golvan, 1956, considerado um parasita emergente na piscicultura brasileira (MALTA et al., 2001; JERÔNIMO et al., 2017). Os peixes parasitados apresentam intensa inflamação intestinal devido à fixação do parasito ou em elevada quantidade, apresentam oclusão parcial ou total do trato intestinal, prejudicando a capacidade de absorção do alimento, tendo como resultado a redução do desempenho produtivo (MALTA et al., 2001; JERÔNIMO et al., 2017).

O crescimento da piscicultura no Brasil tem levado ao aumento na ocorrência de doenças e do uso de quimioterápicos e antimicrobianos para seu controle. Tal prática é questionada devido ao seu impacto negativo nos peixes e no ambiente, como acúmulo de resíduos, imunossupressão, seleção de microrganismos resistentes e prejuízo à comercialização (BILLER-TAKAHASHI, 2014; PILARSKI et al., 2017). Uma alternativa para o controle de doenças na piscicultura são os óleos essenciais de plantas, fitoterápicos que apresentam extensa atividade antimicrobiana e antiparasitária em seus componentes (LANG & BUCHBAUER, 2012).

Até o momento, literatura sobre o tratamento ou controle desta doença nos sistemas de produção é escassa. Tendo em vista a importância econômica da produção de tambaqui e seus híbridos no país, especialmente na região norte, e o impacto econômico atribuído à infecção por *N. buttnerae*, assim como, o efeito negativo do uso de quimioterápicos no tratamento de doenças de organismos aquáticos, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito antiparasitário *in vitro* dos

óleos essenciais de alho (*Allium sativum*), melaleuca (*Melaleuca alternifolia*), hortelã-pimenta (*Mentha piperita*), Manjerição (*Ocimum basilicum*) e tomilho (*Thymus vulgaris*), e conseqüentemente, seu potencial para aplicação em ensaios de eficácia *in vivo* em juvenis de tambaqui.

8 Referências

- ADRIANO, E. A.; ARANA, S.; CORDEIRO, N. S. Histology, ultrastructure and prevalence of *Henneguya piaractus* (Myxosporea) infeting the gills of *Piaractus mesopotamicus* (Characidade) cultivated in Brazil. **Diseases of aquatic organisms**. v. 64, p. 229-235, 2005.
- ALMEIDA-VAL, V. M. F.; VAL, A. L. Adaptação de peixes aos ambientes de criação. **Criando peixes na Amazônia**, p. 45-58, 1995.
- AMIN, O. M. Classification of the Acanthocephala. **Folia Parasitologica**. v.60, n. 4, p. 273, 2013.
- AKINSANYA, B.; ADE-ADEMILUA, O. E.; IDRIS, O.; UKWA, U. D.; SALIU, J. K. Toxicological evaluation of plant crude extracts on helminth parasites of *Clarias gariepinus* using host low observed effect concentration (LOEC). **Egypt journal of aquatic biology**.v. 20, n.2, p. 69-77, 2016.
- ARAÚJO-LIMA, C. A. R. M.; GOMES, L. de C. Tambaqui (*Colossoma macropomum*). **Espécies nativas para piscicultura no Brasil**. Santa Maria: **Editora UFMS**, p. 175-202, 2005.
- ARAÚJO-LIMA, C. A. R. M.; GOULDING, Michael. Os frutos do tambaqui: ecologia, conservação e cultivo na Amazônia. **Brasília: Sociedade Civil Mamirauá/CNPq**, 1998.
- AZAD, I. S.; AL-YAQOULT, A.; AL-ROUMI, M. Antibacterial and immunity enhancement properties of anesthetic doses of thyme (*Thymus vulgaris*) oil and three other anesthetics in *Sparidentax hasta* and *Achantopagrus latus*. **Journal of King Saud University – Science**, v. 26, p.101-106, 2014.
- Baba, E.; Acar, Ü.; Öntaş, C.; Kesbiç, O. S.; Yılmaz, S. 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.

BAKKALI, F., AVERBECK, S., AVERBECK, D., IDAOMAR, M., Biological effects of essential oils – a review. **Food and Chemical Toxicology**.v.46, p.446–475, 2008.

BELO, M. A. A. et al. Haematological response of curimbas *Prochilodus lineatus*, naturally infected with *Neoechinorhynchus curemai*. **Journal of fish biology**, v. 82, n. 4, p. 1403-1410, 2013.

BILLER-TAKAHASHI, J. D. Imunoestimulantes e imunidade de organismos aquáticos. In MADI, R.R.; CAMPOS, C. M.; LIZAMA, M. A. P.; TAKEMOTO, R. M. **Patologia e Sanidade em Ambientes Aquáticos** 1° Ed, Maringá: Editora Massoni, p. 295-328,2014.

BUCHMANN, K.; SIGH, J.; NIELSEN, C. V.; DALGARD, M. Host responses against fish parasitizing ciliate *Ichthyophthirius multifiliis*. **Veterinary Parasitology**.v.100,n.4, p.105-116, 2001.

BOIJINK, C. L.; MIRANDA, W. S. C; CHAGAS, E. C.; DAIRIKI, J.K.; INOUE, L. A. K. A. Antihelmintic activity of eugenol in tambaquis with monogean gill infection. **Aquaculture**. v. 438, p.138-140, 2015.

BOIJINK, C. L.; QUEIROZ, C. A.; CHAGAS, E. C.; CHAVES, F. C. M.; INOUE, L. A. K. A. Anesthetic and antihelmintic effects of clove basil (*Ocimum gratissimum*) essential oil for tambaqui (*Colossoma macropomum*). **Aquaculture**.v.457, p.24-28, 2016.

BRUM, A.; PEREIRA, S.A.; OWATARI, M. S.; CHAGAS, E. C.; CHAVES, F. C. M.; MOURIÑO, J. L. P.; MARTINS, M. L. Effect of dietary essential oils of clove basil

and ginger on Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) following challenge with *Streptococcus agalactiae*. **Aquaculture**. v.468, p. 235-243, 2017

CHAGAS, E. C.; MACIEL, P. O.; AQUINO-PEREIRA, S. L. Infecções por acantocéfalos: Um problema para a produção de peixes In: TAVARES-DIAS, M; MARIANO, W. S. **Aquicultura no Brasil: Novas perspectivas** v.1 Aspectos biológicos, fisiológicos e sanitários de organismos aquáticos, Pedro e João Editores, São Carlos, p. 305-328, 2015.

CHAGAS, E. C., PILARSKI, F., SAKABE, R., MASSAGO, H.; FABREGAT, T. E. H. P.. Suplementos na dieta para manutenção da saúde de peixes. IN TAVARES-DIAS, M. **Manejo e sanidade de peixes em cultivo**. Embrapa Amapá, Macapá. p. 132-225, 2009.

COLLIER, H. B. Standardization of blood haemoglobin determinations. **Canadian Medical Association Journal**, v. 50, n. 6, p. 550, 1944.

COX, S. D.; MANN, C. M.; MARKHAM, J. L.; BELL, H.C.; GUSTAFSON, J. E.; WARMINGTON, J. R.; WYLLIE, S. G. The mode of antimicrobial action of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). **Journal of applied microbiology**.v.88, p.170-175, 2000.

CUSTÓDIO-COSTA, J.; VALLADÃO, G. M. R.; PALA, G.; GALLANI, S. U.; KOTZENT, S.; CROTTI, A. E. M.; FRACAROLLI, L.; SILVA, J. J. M.; PILARSKI, F. Copaifera duckei oleoresin as a novel alternative for treatment of monogenean infections in pacu *Piaractus mesopotamicus*. **Aquaculture**. v. 471, p. 72-79, 2017

DELGADO, P. M.; DELGADO, J. P. M.; ARENAS, J. V.; ORBE, R. I.; Infestación masiva por *Perulernaea gamitanae* (Crustacea: Cyclopoida: Lernaeidae) em juveniles de gamitana, cultivados em la Amazonia peruana. **Veterinaria México**.v.42,n.1, p.59-64, 2011.

- DIAS, M. K. R.; NEVES, L. R.; MARINHO, R. G. B.; PINHEIRO, D. A. TAVARES-DIAS; M. Parasitismo em tambatinga (*Colossoma macropomum* X *Piaractus brachypomus*, Characidae) cultivados na Amazônia, Brasil. **Acta amazônica** v.45, n.2, p. 231-238, 2015.
- EIRAS, J. C.; TAKEMOTO, R. M.; PAVANELLI, G. C. **Diversidade dos parasitas de peixes de água doce do Brasil**, Click e Tech, Maringá, 333 p. 2010.
- EIRAS, J. C.; TAKEMOTO, R. M., PAVANELLI, G. C. **Métodos de estudo e técnicas laboratoriais em parasitologia de peixes**, Eduem, Maringá, 2000.
- EL-GALIL, M. A. A.; ABOELHADID, S. M. Trials for the control of trichodinosis and gyrodactylosis in hatchery reared *Oreochromis niloticus* fries by using garlic. **Veterinary parasitology**, v. 185, n. 2-4, p. 57-63, 2012.
- FISHERIES, F. A. O. Aquaculture Department (2010) The state of world fisheries and aquaculture. **Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome**, 2016.
- FISCHER, C.; MALTA, J. C. O; VARELLA, A. M. B. A fauna de parasitas do tambaqui, *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818) (Characiformes: Characidae) do médio rio Solimões, Estado do Amazonas (AM) e do baixo rio Amazonas, Estado do Pará (PA), e seu potencial como indicadores biológicos. **Acta Amazônica**.v.33, p.651-662, 2003.
- FRIDMAN, S.; SINAI, T.; ZILBERG, D.. Efficacy of garlic based treatments against monogenean parasites infecting the guppy (*Poecilia reticulata* (Peters)). **Veterinary parasitology**, v. 203, n. 1-2, p. 51-58, 2014.
- GERY, J. **Characoids of the world**. T.H.F. Publications. New Jersey, 672p, 1977

GIARRATANA, F.; MUSCOLINO, D.; BENINATI, C.; GIUFFRIDA, A.; PANEBIANCO, A. Activity of *Thymus vulgaris* essential oil against *Anisakis* larvae. **Experimental Parasitology**.v.142, p.7-10, 2014.

GODOI, M. M. I. M.; ENGRACIA, V.; LIZAMA, M. L. A. P.; TAKEMOTO, R. M. Parasite-host relationship between the tambaqui (*Colossoma macropomum* Cuvier 1818) and ectoparasites, collected from fish farms in the city of Rolim de Moura, State of Rondônia, Western Amazon, Brazil. **Acta Amazônica**.v.42,n.4, p.515-524, 2012.

GOLDENFARB; P. B.; BOWYER, F. P.; HALL, E.; BROSIOUS, E. Reproducibility in the hematology laboratory: the microhematocrit determination. **American Journal of Clinical Pathology**, v. 56, n. 1, p. 35-39, 1971.

GOLVAN, Y. J. Acanthocéphales d'amazone, redescription d'*Oligacanthorhynchus inheri* TRAVASSOS, 1916 et description de *Neoechinorhynchus buttnerae* n. sp. (Neoacanthocephala-Neoechinorhynchidae) **Annales de parasitologie humaine et comparee** 31, p. 500-524, 1956.

GOMES, L. C.; SIMÕES, L.N.; ARAÚJO-LIMA, C. A. R. M. Tambaqui (*Colossoma macropomum*) In BALDISSEROTO, B.; GOMES, L. C. **Espécies nativas para piscicultura de água doce no Brasil**. 2. ed. Santa Maria, Ed. UFSM, 608 p. 2013

GULEC, A. K.; DANABAS, D.; URAL, M.; SEKER, E.; ARSLAN, A.; SERDAR, O. Effect of mixed use of thyme and fennel oils on biochemical properties and electrolytes in rainbow trout as a response to *Yersinia ruckeri* infection. **Acta Veterinaria Brno**.v. 82, p 297-302, 2013.

HASHIMOTO, G. S. O.; MARINHO-NETO, F.; RUIZ, M. L.; ACCHILE, M.; CHAGAS, E. S.; CHAVES, F. C. M.; MARTINS, M. L. Essential oils of *Lippia*

sidooides e *Mentha piperita* against monogenean parasites and their influence on the hematology of Nile tilapia. **Aquaculture**.v.450, p.182-186, 2016.

HARIKRISHNAN, R.; BALASUNDARAM, C.; KIM, M. C.; KIM, J. S.; HAN, Y. J.; HEO, M. S. Innate immune response and disease resistance in *Carassius auratus* by triherbal solvent extracts. **Fish & shellfish immunology**, v. 27, n. 3, p. 508-515, 2009.

HARIKRISHNAN, R. S., MOON, Y. G., KIM, M. C., KIM, J. S., DHARANEEDHARAN, , HEO, M. S. Phytotherapy of ulcerative dermatitis induced by *Aeromonas hydrophila* infection in goldfish (*Carassius auratus*). **Acta Veterinaria Hungarica**.v. 58, n. 1, p. 29-37, 2010.

HERNÁNDEZ, A.; GARCÍA GARCÍA, B.; JORDÁN, M. J.; HERNÁNDEZ, M. D.; Study of the dose of thyme essential oil in feed to prolong the shelf life of gilthead seabream (*Sparus aurata*). **Aquaculture nutrition**. v.21, p.704-709, 2015.

HRUBE, T.C. & SMITH, S.A. Hematology of fish. In: FELDMAN, B.F.; ZINKL, J.G. & JAIN, N.C. (Ed.). **Schalm's Veterinary Hematology**. 5th ed. Blackburg: Wiley-Blackwell. p.1120-5. 1998

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), **Produção Pecuária Municipal 2015**, v. 43, p.1-49, Rio de Janeiro, 2015.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), **Produção Pecuária Municipal 2016**, v. 44, p, 1-51, Rio de Janeiro, 2016.

JERÔNIMO, G. T.; PÁDUA, S. B.; BELO, M. A. A.; CHAGAS, E. C.; TOBOGA, S. R.; MACIEL, P. O.; MARTINS, M. L. *Neoechinorhynchus butnerae*(Acanthocephala) infection in farmed *Colossoma macropomum*: A pathological approach. **Aquaculture**, v.469, p.124-127, 2017.

JIANG, C.; WU, Z. Q.; LIU, L.; WANG, G. X.; Synergy of herbal ingredients against *Dactylogyrus* spp. in an infected goldfish model for monogenean management. **Aquaculture**.v.433, p.115-118, 2014.

KARAGOUNI, E.; ATHANASSOPOLOU, F.; LYTRA, A.; KOMIS, C.; DOTSIKA, E. Antiparasitic and immunomodulatory effect of innovative treatments against *Myxobolus* sp. Infection in *Diplodus puntazzo*. **Veterinary parasitology**.v.134, p.215-228, 2005.

LANG, G.; BUCHBAUER, G. A review on recent research results (2008-2010) on essential oil as antimicrobials and antifungals. A review. **Flavor and Fragrance Journal**. v. 27, p. 13-39, 2012.

LEE, J. Y.; GAO, Y. Review of application of garlic, *Allium sativum*, in aquaculture. **Journal of the world aquaculture society**.v.43, n.4, p.447-458, 2012.

LIU, Y. M.; ZHANG, Q. Z.; XU, D. H.; FU, Y. W.; LIN, D. J.; ZHOU, S. Y.; LI, J. P. Antiparasitic efficacy of curcumin from *Curcuma longa* against *Ichthyophthirius multifiliis* in grass carp. **Veterinary parasitology**, v. 236, p. 128-136, 2017.

LOURENÇO, F. S. O ciclo de vida de *Neoechinorhynchus* (*Neoechinorhynchus*)*buttnerae* Golvan, 1956 (Euacanthocephala: Neoechinorhynchidae) parasita de *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818) (Characiformes: Characidae) da Amazônia brasileira. Dissertação de mestrado INPA, Manaus 2017.

LUVISOTO-SANTOS, R.; ELER, M. N.; ESPÍNDOLA, E. L. G.; VIEIRA, E. N. O uso de praguicidas nas pisciculturas e pesqueiros situados na bacia do rio Mogi-Guaçu. **Boletim do Instituto de pesca**. São Paulo, v.35, n.3, p.343-358, 2009.

MACIEL, P. O. Efeito do praziquantel sobre as variáveis sanguíneas de *Colossoma macropomum* Cuvier, 2018 (Characidae: Serrasalminae) e sua

eficiência como anti-helmíntico no controle de parasitas monogenóides (Platyhelminthes: Monogenoidea. Manaus, 2009 81p. Dissertação (Biologia de água doce e pesca interior) – Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia.

MAJOLO, C. , ROCHA, S. I., CHAGAS, E. C., CHAVES, F. C.; BIZZO, H. R. Chemical composition of *Lippiaspp.* essential oil and antimicrobial activity against *Aeromonas hydrophila*. **Aquaculture research**. v. 48, p. 2380-2387, 2017.

MALAQUIAS, G.; CREQUEIRA, G. S.; FERREIRA, P. M. P.; PACHECO, A. C. L.; SOUZA, J. M. C.; DEUS, M. S. M.; PERON, A. P. Utilização na medicina popular, potencial terapêutico e toxicidade em nível celular das plantas *Rosmarinus officinalis* L., *Salvia officinalis* L., e *Mentha piperita* L. (Família Laminaceae). **RevInter Revista intertox de toxicologia, risco ambiental e sociedade**. v.7, n.3, p.50-68, 2014.

MALHEIROS, D. F.; MACIEL, P. O.; VIDEIRA, M. N.; TAVARES-DIAS, M. Toxicity of the essential oil of *Mentha piperita* in *Arapaima gigas* (pirarucu) and antiparasitics effects on *Dawestrema* spp. (Monogenea). **Aquaculture**. v.455, p.81-86, 2016.

MALTA, J. C. Os peixes de um lago de várzea da Amazônia central (Lago Janauacá, Rio Solimões) e suas relações com os crustáceos ectoparasitas (Branchiura: Argulidae). **Acta Amazônica**. v.14,n.3-4, p.355-372, 1984.

MALTA, J. C. O.; GOMES, A. L. S.; ANDRADE, S. M. S.; VARELLA, A. M. B. Infestações maciças por acantocéfalos, *Neoechynorhynchus buttnerae*, Golvan, 1956, em tambaquis jovens, *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818), cultivados na Amazônia central. **Acta Amazônia**, v.31, p.133-143, 2001.

MARTINS, M. L.; SOUZA, V. N.; MORAES, J. R. E.; COSTA, A. J. Comparative evaluation of the susceptibility of cultivated fishes to the natural infection with

mixosporean parasites and tissue changes in the host. **Revista Brasileira de Zoologia.** v.59, n.2, p.263-269, 1999.

MATOS, L. V.; OLIVEIRA, M. I. B.; GOMES, A. L. S.; SILVA, G. S. Morphological and histochemical changes associated with massive infection by *Neoechinorhynchus buttnerae* (Acanthocephala: Neoechinorhynchidae) in the farmed freshwater fish *Colossoma macropomum* Cuvier, 1818 from the Amazon State, Brazil. **Parasitology Research.**v.116, p.1029-1037, 2017.

MATTHEWS, R. A. Ichthyophthirius multifiliis Fouquet and ichthyophthiriosis in freshwater teleosts. **Advances in Parasitology**, v. 59, p. 159-241, 2005.

MELO, L. A. S.; IZEL, A. C. U.; RODRIGUES, F. M. **Criação de tambaqui (*Colossoma macropomum*) em viveiros de argila/barragens no Estado do Amazonas.** Embrapa Amazonia Ocidental, Manaus, 30p, 2001.

MILITZ, T. A. et al. Efficacy of garlic (*Allium sativum*) extract applied as a therapeutic immersion treatment for *Neobenedenia* sp. management in aquaculture. **Journal of fish diseases**, v. 37, n. 5, p. 451-461, 2014.

MORO, G. V.; REZENDE, F. P.; ALVES, L. A.; HASHIMOTO, D. T.; VARELA, E. S.; TORATI, L. S. Espécies de peixe para piscicultura. In RODRIGUES, A. P. O.; LIMA, A. F.; ALVES, A. L.; ROSA, D. K.; TORATI, L. S.; SANTOS, V. R. V. **Piscicultura de água doce: Multiplicando conhecimentos.** Embrapa, Brasília, p.29-70, 2013.

OLIVEIRA, A. A. B.; MARTINELLI, M. Z.; MOREIRA, M. G. M.; SOARES, Seasonality of energy sources of *Colossoma macropomum* in a floodplain lake in the Amazon Lake Camaleão, Amazonas, Brazil. **Fisheries Management and Ecology.**v.13 p.135-142, 2006.

ÖZCAN, M.; CHALCHAT, J. C. Aroma profile of *Thymus vulgaris* L. growing wild in Turkey. **Bulg. Journal of Plant Physiology**. v.30, n.3-4, p.68-73, 2004.

PAVANELLI, G. C.; TAKEMOTO, R. M.; EIRAS, J. C. **Parasitologia Peixes de água doce do Brasil**. Maringá, Eduem, 452 p., 2013.

PEREIRA, L. A., WEISS, L. A., BESEN, M. A., & MARENGONI, N. G. Uso de extratos de plantas e suas propriedades profiláticas ou terapêuticas na produção de peixes. **Scientia Agraria Paranaensis**, v. 15, n. 4, p. 373-380, 2016

PILARSKI, F.; OLIVEIRA, C. A. F., SOUZA, F. P. B. D.; ZANNUZO, F. S. Different β -glucans improve the growth performance and bacterial resistance in Nile tilapia. **Fish & shellfish immunology**, v. 70, p. 25-29, 2017.

PILARSKI, F.; VARANDAS, D. N.; VALLADÃO, G. M. R.; **Piscicultura: aspectos relevantes**. Uruguaiana, Fundação Universidade Federal do Pampa, v. 15 415 p. 2016

PUK, K.; GUZ, L. Effects of medical plant extracts on the growth of fish parasite *Spironucleus vortens*. **Medycyna Weterynaryjna**. v. 70, n. 8, p 165-168, 2014

RANZANI-PAIVA, M. J.; PÁDUA, S. B.; TAVARES-DIAS, M.; EGAMI, M.I. **Métodos para análises hematológicas em peixes**. Maringá, Eduem, 2013, 140p.

REVERTER, M.; BONTEMPS, N.; LECCHINI, D.; BANAIGS, B.; SASAL, P. Use of plant extracts in fish aquaculture as an alternative to chemotherapy: Current status and future perspectives. **Aquaculture**. v.433, p.50-61, 2014.

ROSNY, H.S.; HOSSAIN, M.; HASAN-UJ-JAMAN; ROY, H. S. AURPA, I. A.; KHONDOKER, S.; BISWAS, C. Dietary supplementation of garlic (*Alium sativum*) to prevent Acanthocephala infection in aquaculture. **International journal of fisheries and aquatic studies**. v.4, n.3, p.188-192, 2016.

SAHU, S.; DAS, B. K.; MISHRA, B. K.; PRADHAN, J.; SARANGI, N. Effect of *Allium sativum* on the immunity and survival of *Labeo rohita* infected with *Aeromonas hydrophila*. **Journal of Applied Ichthyology**, v. 23, n. 1, p. 80-86, 2007.

SANTOS, C. P.; MACHADO, P. M.; SANTOS, E. G. N. Acanthocephala In PAVANELLI, G. C.; TAKEMOTO, R. M.; EIRAS, J. C. (Org). **Parasitologia de peixes de água doce do Brasil**. Maringá, Eduem, p.353-370, 2013.

SANTOS, C. P.; GIBSON, D. I.; TAVARES, L. E.; LUQUE, J. L. Checklist of Acanthocephala associated with the fishes of Brazil. **Zootaxa**, v.1938, p.1-22, 2008.

SCHELKLE, B.; SNELGROVE, D.; CABLE, J. *In vitro* and *in vivo* efficacy of garlic compounds against *Gyrodactylus turbulli* infecting the guppy (*Poecilia reticulata*). **Veterinary parasitology**. v.198, n.1-2, p.96-101, 2013.

SILVA, R. M.; TAVARES-DIAS, M.; DIAS, M. W. R.; DIAS, M. K. R.; MARINHO, R. G. B. Parasitic fauna in hybrid tambacu from fish farms. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.48, n.8, p.1049-1047, 2013.

SILVA-GOMES, A. L.; COELHO-FILHO, J. G.; VIANA-SILVA, W.; BRAGA-OLIVEIRA, M. I.; BERNARDINO, G.; COSTA, J. I. The impact of *Neoechinorhynchus buttnerae* (Golvan, 1956) (Eoacanthocephala: Neochinorhynchidae) outbreaks on productive and economic performance of the tambaqui *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818), reared in ponds. **Latin American Journal of Aquatic Research**.v.45, p.496-500, 2017.

SOARES B. V., CARDOSO, A. C. F., CAMPOS, R. R., GONÇALVES, B. B., SANTOS, G. G., CHAVES, F. C. M. TAVARES-DIAS, M. Antiparasitic, physiological and histological effects of the essential oil of *Lippia organoides*

(Verbenaceae) in native freshwater fish *Colossoma macropomum*. **Aquaculture**, v. 469, p. 72-78, 2017.

SOUZA, C. F.; BALDISSERA, M. D.; VAUCHER, R. A.; LOPES, L. Q. S.; VIZZOTTO, B. S.; RAFFIN, R. P.; SANTOS, R. C. V.; VEIGA, M. L.; ROCHA, M. I. U. M.; STEFANI, L. M.; BALDISSEROTO, B. *In vivo* bactericidal effect of *Melaleuca alternifolia* essential oil against *Pseudomonas hydrophila*: Silver catfish (*Rhamdia quelen*) as an experimental model. **Microbial pathogenesis**.v.98, p.82-87, 2016.

SOUZA, C.F.; BALDISSERA, M. D.; SANTOS, R. C. V.; RAFFIN, R. P.; BALDISSEROTO, B. Nanotechnology improves the therapeutic efficacy of *Melaleuca alternifolia* essential oil in experimentally infected *Rhamdia quelen* with *Pseudomonas aeruginosa*. **Aquaculture**.v.473, p.169-171, 2017.

STEVEDING, D.; MORGAN, E.; TKACZYNSKI, F. W.; TINSLEY, R. Effect of Australian tea tree oil on *Gyrodactylus* spp. Infection of the three spined stickleback *Gasterosteus aculeatus*. **Diseases of aquatic organisms**.v.66, p.29-32, 2005.

TALPUR, A. D. *Mentha piperita* (Peppermint) as feed additive enhanced growth performance, survival, immune response and disease resistance of Asian seabass (*Lates calcarifer*) against *Vibrio harveyi* infection. **Aquaculture**.v.420-421, p.71-78, 2014.

TAVARES-DIAS, M.; MARTINS, M. L. An overall estimation of losses caused by diseases in the Brazilian fish farms. **Journal of parasitic diseases**.v.41, n.4, p. 913-918, 2017

TAVARES-DIAS, M; MORAES, F. R. Leukocyte and thrombocyte reference values for channel catfish (*Ictalurus punctatus*Raf), with an assessment of morphologic,

cytochemical, and ultrastructural features. **Veterinary Clinical Pathology**, v.36, n. 1, p. 49-54, 2007.

TAVARES-DIAS, M.; NEVES, L. R.; SANTOS, E. F.; DIAS, M. K; R.; MARINHO, R. G. B.; ONO, E. A. *Perulernaea gamitanae* (Copepoda: Lernaiedae) parasitizing tambaqui (*Colossoma macropomum*) (Characidae) and the hybrids tambacu and tambatinga, cultured in northern Brazil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**.v.63. n.4, p.988-995, 2011.

THOMSEN, P. S.; JENSEN, T. M., HAMMER, K. A., CARSON, C. F., MOLGAARD, P., & RILEY, T. V. . Survey of the antimicrobial activity of commercially available Australian tea tree (*Melaleuca alternifolia*) essential oil products in vitro. **The Journal of Alternative and Complementary Medicine**, v. 17, n. 9, p. 835-841, 2011.

VALLADÃO, G. M. R. Óleos essenciais de plantas na dieta de tilápia-do-Nilo: efeitos sobre a saúde, morfologia intestinal e microbiota. Tese (Doutorado em aquicultura) Centro de aquicultura da Unesp, Jaboticabal, 2018.

VALLADÃO, G. M. R. Potencial de óleos essenciais de plantas para o tratamento de enfermidades em peixes.Dissertação (Mestrado em aquicultura) Centro de Aquicultura da Unesp, Jaboticabal 2014.

VALLADÃO, G. M. R.; GALLANI, S. U.; IKEFUTI, C. V.; CRUZ, C.; LEVI-PEREIRA, N.; RODRIGUES, M. V. N.; PILARSKI, F. Essential oil to control ichthyophthiriasis in pacu *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg): special emphasis on treatment with *Melaleuca alternifolia*. **Journal of fish disease**.v.39, n.10, p.1143-1152, 2016.

VALLADÃO, G. M. R.; GALLANI, PILARSKI, F. Phytotherapy as an alternative for treating fish disease. **Journal of veterinary pharmacology and therapeutics**.v. 38, p.417-428, 2015.

VENTURA, A. S.; GABRIEL, A. M. A.; SARAVY, T. M.; CAVICHIOLO, F. Descrição histopatológica das lesões intestinais de híbrido patinga parasitado. **Revista de ciência veterinária e saúde pública**. v.4, n.1, p.002-008, 2017.

VIDEIRA, M.; VELASCO, M.; MALCHER, C. S.; SANTOS, P.; MATOS, P.; MATOS, E. An outbreak of mixozoans parasites in farmed fish *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818) in the Amazon region, Brazil. **Aquaculture reports**.v.3, p.31-34, 2016.

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

YILMAZ, S.; ERGÜN, S.; SOYTAZ, N. Herbal supplements are useful to preventing streptococcal disease during first feeding of tilapia fry, *Oreochromis mossambicus*. **The Israeli Journal of Aquaculture – Bamidgeh**.5 p, 2013.

ZADMAJID, V., & MOHAMMADI, C. H. Dietary thyme essential oil (*Thymus vulgaris*) changes serum stress markers, enzyme activity, and hematological parameters in gibel carp (*Carassius auratus gibelio*) exposed to silver nanoparticles. **Iranian Journal of Fisheries Sciences**.v.16, p.1063-1084, 2017.

ZHENG, Z. L.; TAN, J. Y. W.; LIU, H. Y.; ZOHU, X. H; XIANG, X.; EANG, K. Y. Evaluation of orégano essential oil (*Origanum heracleoticum*) on growth, antioxidant effect and resistance against *Aeromonas hydrophila* in channel catfish (*Italurus punctatus*). **Aquaculture**. v. 292, p.214-218, 2009.