

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP

Suplementação de unha-de-gato (*Uncaria tomentosa*) em dietas para tilápias-do-Nilo e acará-bandeira (*Pterophyllum scalare*)

Daniel Leonardo Cala Delgado
Medico Veterinário e Zootecnista

Jaboticabal, SP
2015

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP

Suplementação de unha-de-gato (*Uncaria tomentosa*) em dietas para tilápias-do-Nilo e acará-bandeira (*Pterophyllum scalare*)

Daniel Leonardo Cala Delgado
Medico Veterinário e Zootecnista

Orientador: Prof. Dr. : João Batista Kochenborger Fernandes

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Aquicultura do Centro de Aquicultura da UNESP- CAUNESP, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Aquicultura.

Jaboticabal, SP

2015

C141s Cala, Daniel Leonardo Delgado
Suplementação de unha-de-gato (*Uncaria tomentosa*) em dietas
para tilápias-do-Nilo e acará-bandeira (*Pterophyllum scalare*) / Daniel
Leonardo Cala Delgado – – Jaboticabal, 2015
vii, 70 p. : il. ; 29 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Centro
de Aquicultura, 2015
Orientador: João Batista Kochenborger Fernandes
Banca examinadora: Flávio Ruas de Moraes, Marco Antonio de
Andrade Belo
Bibliografia

1. Piscicultura. 2. Fitoterapia. 3. *Uncaria tomentosa*. I. Título. II.
Jaboticabal-Centro de Aquicultura

CDU 639.3.043

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

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: Suplementação da unha-de-gato (*Uncaria tomentosa*) em dietas para tilápias-do-nilo e acaré-bandeira (*Pterophyllum scalare*).

AUTOR: DANIEL LEONARDO CALA DELGADO

ORIENTADOR: Prof. Dr. JOAO BATISTA KOCHENBORGER FERNANDES

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

Prof. Dr. JOAO BATISTA KOCHENBORGER FERNANDES
Laboratório de Peixes Ornamentais, Centro de Aquicultura da UNESP

Prof. Dr. FLAVIO RUAS DE MORAES
Departamento de Patologia Veterinária / Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal

Prof. Dr. MARCO ANTONIO DE ANDRADE BELO
Universidade Camilo Castelo Branco

Data da realização: 17 de março de 2015.

Sumário

Resumo	11
Abstract	13
Introdução Geral	14
Tilápia-do-Nilo	15
Acará-bandeira	16
Fitoterápicos na aquicultura	17
Unha-de-gato (<i>Uncaria tomentosa</i>)	19
Objetivos gerais	21
Objetivos específicos	21
Capítulo 1 – Inclusão da unha-de-gato (<i>Uncaria tomentosa</i>) em dietas para tilápias-do-Nilo	22
Resumo	22
Abstract	23
1. Introdução	24
2. Material e Métodos	25
2.1. Animais e modelo experimental	25
2.2. Monitoramentos das condições ambientais	26
2.3. Material vegetal e extração	26
2.4. Preparação das dietas	26
2.5. Avaliação do desempenho produtivo	28
2.6. Histopatologia de fígado	29
2.7. Avaliação do eritrograma e índices hematimétricos	29
2.8. Avaliações bioquímicas	30
2.9. Análise estatística	30
3. Resultados	31

3.1 Parâmetros físico-químicos da água	31
3.2 Princípios ativos da <i>Uncaria tomentosa</i>	31
3.3. Desempenho produtivo	32
3.4. Histopatologia do fígado.....	33
3.5. Eritrograma e índices hematimétricos	33
3.6. Análises bioquímicas.....	35
4. Discussão	36
5. Conclusão.....	38
6. Referências Bibliográficas	40
Capítulo 2 – Suplementação da unha-de-gato (<i>Uncaria tomentosa</i>) em dietas para acará-bandeira (<i>Pterophyllum scalare</i>)	45
Resumo	45
Abstract	46
1. Introdução.....	47
2. Material e Métodos	48
2.1. Animais e delineamento experimental.....	48
2.2. Material Vegetal e extração.....	49
2.3. Preparação das dietas.....	49
2.4. Avaliação do desempenho produtivo.....	50
2.5. Histopatologia de fígado.....	51
2.6. Simulação de transporte.....	52
2.7. Análises estatísticas	52
3. Resultados e discussão	53
3.1. variáveis físico-químicas da água.....	53
3.2. Desempenho produtivo	53
3.3. Histopatologia de fígado.....	55

3.4. Simulação de transporte.....	57
3. Conclusão.....	59
4. Referências Bibliográficas	60
Considerações finais	64
Referências complementares	64

Dedicatória

Dedico este trabalho especialmente ao meu avô, Cesar Cala Ramirez (em memoria), pelos conselhos e exemplo de responsabilidade.

Dedico aos meus pais, Julio Cala Cala e Maria Divet Delgado pelo apoio, para em mais uma oportunidade cumprir minhas metas e alcançar meus sonhos.

Dedico em geral a toda minha familia, que são e sempre serão minha fortaleza e motivo para o enriquecimento pessoal e profissional.

Agradecimentos

Dou infinitas graças a Deus por ser minha rocha firme, meu guia e proteção durante uma viagem de aventuras difíceis.

Aos meus pais, Julio Cala Cala e Maria Divet Delgado, ao meu padrasto Henry Villareal pela amizade e familiares pela força, palavras de animo para cada dia ter vontade de lutar pelas minhas prioridades e por aquelas inumeráveis ajudas econômicas para participar de atividades acadêmicas.

A minha namorada Mirian agradeço enormemente, por ser companheira neste longo caminho, ter paciência, me escutar dia a dia e sempre diminuir os problemas com um sorriso.

Ao Professor João Batista Kochenborger Fernandes, pela oportunidade de fazer parte do seu grupo de estudo, pela confiança durante todo o mestrado e pela serenidade em momentos de confusão.

Aos Professores Flávio Ruas de Moraes e Marco Antonio de Andrade Belo, pela participação e disposição do tempo na banca de defesa.

Ao grupo do laboratório, Julian, Jefferson, Fabio e Bruno e aos estagiários Veronica, Gustavo e Juliete pelas ajudas nas coletas.

Aos meus amigos, Thiago, Valeria, Mayara, Fernando, Talita, Fausto, pelos momentos compartilhados e ajudas durante o desenvolvimento do meu trabalho, e todos os que fizeram parte deste estudo.

Ao Jesaías pela ajuda nas análises estatísticas e pelas dicas na hora de avaliar os dados agradeço muito.

Ao Professor Wilson Gomez pela ajuda nas análises e explicações das lâminas histológicas.

Aos funcionários do CAUNESP e amigos, Valdecir, Marcio (perereca) e Silvia que foram fundamentais para alcançar o objetivo, A Veralice (Vera) obrigado pelos diversos auxílios.

Ao proprietário da empresa Poytara Junior Figueiredo e os funcionários que tiveram a amabilidade de me acompanhar na preparação da ração dos acará-bandeirae, em especial, ao Rudã Fernandes.

Ao Professor José Jurandir Fagliari e os técnicos Renata, Paulo e Cláudia do Laboratório de Apoio à Pesquisa do Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária, por me permitir processar e analisar as amostras do soro sanguíneo.

A Suely Rodrigues proprietária da empresa Projeto Peixe, pela doação das tilápias.

Aos moradores da república Myzheria pela amizade e companheirismo em muitos momentos durante esta longa caminhada.

Aos amigos e vizinhos do condomínio; Marcelo, Natalia, Estersinha, Llerme, Jorge, Oniel e David (Chicharito), pelos momentos compartilhados e risadas em tempos de alegria e ajudas nos momentos de dificuldade, muito grato pela amizade.

Agradeço a todos os que direta e indiretamente fizeram parte desta travessia...

O sábio escutará e absorverá mais instrução,e homem de entendimento é aquele que adquire orientação perita para entender um provérbio e uma expressão enigmática,as palavras de sábiose seus enigmas.

(Provérbios 1: 5 - 6).

Resumo

A unha-de-gato (*Uncaria tomentosa*) é uma planta amazônica que apresenta propriedades anti-inflamatórias. Estudos prévios demonstraram aumento no desempenho produtivo em tilápias-do-Nilo, porém os peixes apresentaram alterações hepáticas. Este trabalho teve por objetivo avaliar o desempenho produtivo e aspectos toxicológicos em tilápias-do-Nilo e acará-bandeira, alimentados com dietas suplementadas com unha-de-gato. No estudo com tilápias-do-Nilo foram testados níveis de suplementação 0; 150; 300; 450 mg de unha-de-gato / kg⁻¹ de ração, sendo a avaliação das tilápias em delineamento em blocos casualizados (peso), com quatro repetições. Além da avaliação inicial, foram realizadas duas biometrias (30 dias e 60 dias) para avaliar desempenho produtivo, coleta de sangue e órgãos (fígado, rim, baço). No estudo com acará-bandeira, foram estudadas os níveis de 0; 75; 150; 300; 450 mg de unha-de-gato / kg de ração, em um delineamento inteiramente casualizado. Para as análises de desempenho produtivo e coleta de órgãos foram realizadas biometrias a cada 30 dias durante 5 meses, sendo que no último mês os peixes foram submetidos à simulação de transporte por 24 horas. Posteriormente, foram avaliados a glicemia sanguínea, mortalidade e parâmetros de qualidade da água. No estudo com tilápias-do-Nilo, aos 30 dias, os peixes apresentaram redução no consumo médio de ração e conversão alimentar aparente nos grupos alimentados com dietas contendo unha-de-gato. A proteína total e globulina foram maiores no grupo arraçoado com a concentração de 450 mg/kg. Os demais parâmetros avaliados não apresentaram diferença ($p > 0,05$) entre os tratamentos. Aos 60 dias as tilápias suplementadas com a planta não apresentaram diferenças no desempenho produtivo e na avaliação da série vermelha quando comparados ao grupo controle. Aos 30 dias não houve diferença entre os tratamentos para glicemia, mas este mesmo parâmetro aos 60 dias foi menor no tratamento 450 mg/kg comparado com o controle. No teste bioquímico de funcionalidade hepática os teores da aspartato transaminase (AST), proteínas totais (PT) e globulina foram maiores nos grupos suplementados com unha-de-gato, assim como foram observadas alterações hepáticas, sugerindo que a planta apresenta características hepatotóxicas. Os resultados demonstraram que não houve interferência da unha-

de-gato no desempenho produtivo dos acarás-bandeira, porém os peixes apresentaram alterações no tecido hepático o que pode comprometer sua saúde. Após a simulação de transporte, a glicemia e a qualidade de água não foram alteradas entre os grupos.

Palavras-chaves: Fitoterapia, desempenho produtivo, estresse, histologia, fígado.

Abstract

Cat's claw (*Uncaria tomentosa*) is an Amazonian plant that presents anti-inflammatory properties. Previous studies have shown an increase in the productive performance of Nile tilapia; however, fish presented liver alterations. This study aimed to evaluate the performance and toxicological aspects in Nile tilapia and freshwater angelfish fed diets supplemented with cat's claw. In the study with Nile tilapia were tested supplementation levels of 0; 150; 300; 450 mg of cat's claw/Kg of feed, and the assessment of Nile tilapia was in a randomized block design (weight) with four replications. In the initial assessment, there were two biometrics (30 days and 60 days) to evaluate growth performance, collection of blood and organs (liver, kidney, spleen). In the study with angelfish, were studied levels of 0; 75; 150; 300; 450 mg of cat's claw/Kg of diet in a completely randomized design. For the analysis of growth performance and collection of organs were collected every 30 days for 5 months, and in the last month fish were submitted to simulations of transport for 24 hours. After that, they were evaluated blood glucose, mortality and water quality parameters. In the study with Nile tilapia, at 30 days, fish presented a reduction in feed mean intake and feed conversion in the groups fed diets containing cat's claw. Total protein and globulin were higher in the group fed 450 mg/Kg. Other parameters did not differ ($p > 0.05$) between treatments. At 60 days, Nile tilapia supplemented with the plant did not show differences in growth performance and blood count compared to the control group. At 30 days there was no difference between treatments for blood glucose, but this same parameter at 60 days was lower in the treatment 450 mg/kg compared with control group. In the test of hepatic functionality, the levels of aspartate transaminase (AST), total protein (TP) and globulin were higher in the groups supplemented with cat's claw, as well as liver changes were observed, suggesting that the plant presented hepatotoxic features. The results showed that there was no interference of cat's claw on growth performance of angelfish, however, fish showed changes in liver tissue which can compromise its health. After transport simulation, blood glucose and water quality were not changed between the groups.

Keywords: Phytotherapy, productive performance, stress, histology, liver.

Introdução Geral

A aquicultura é uma das atividades do setor pecuário que mais tem crescido no mundo nos últimos anos. Calcula-se que a oferta de peixe aumenta em média anual 3,2% ao ano (FAO, 2014). Além disso, o aumento da população e a procura por alimentos mais saudáveis influenciam na demanda por organismos aquáticos (Jensen et al., 2014).

A criação de peixes no Brasil representou 61% do valor total da aquicultura, com 392,493 mil toneladas em 2013. O grande potencial para desenvolver aquicultura é decorrente da grande área hidrográfica e clima adequado. As regiões Centro-Oeste e Sul obtiveram os maiores índices de produção com 26,8% e 22,4% respectivamente. O Nordeste é a terceira região em piscicultura com 19,5%, seguido do Norte e Sudeste com 18,5% e 12,8%. No grupo de espécies criadas no Brasil, a tilápia-do-Nilo ocupa o primeiro lugar na lista, correspondendo ao 43,1% da produção (IBGE, 2014).

O mercado de peixes ornamentais é amplo, biodiverso e global (Tlustý et al., 2013). Essa atividade em nível mundial, alcança valor anual aproximado de US\$ 500 milhões (Dykman et al., 2012). Em 2012, 5,4 milhões de toneladas da produtividade aquícola foram usadas para fins ornamentais e outros propósitos (FAO, 2014).

A Espanha é o país com o maior valor de exportação de peixes ornamentais (18,49% do total) seguido por Cingapura com 16,87%. Em volume de importação no mesmo ano, os Estados Unidos participaram com o 15,26% do valor total (350 milhões de dólares) (FAO, 2012).

O Brasil foi, em 2011, o segundo país sul-americano, depois da Colômbia, em exportação de peixes ornamentais alcançando a cifra de US\$ 7,3 milhões (FAO, 2012). A maioria dos peixes ornamentais de água doce comercializados no mundo são produzidos em pisciculturas. Porém, a maior variedade de espécies é capturada na natureza, principalmente de bacias hidrográficas da região Amazônica, sendo uma dessas espécies o acará-bandeira *Pterophyllum scalare* (Liechtenstein) (Junk et al., 2007; Coe et al., 2011).

A nutrição de peixes ornamentais é pouco estudada (Takahashiet al., 2010) e, para melhorar a produção e atender a demanda mundial, é necessário administrar dietas completas e balanceadas com aditivos que otimizem a saúde e colaborem com o crescimento dos peixes, direta ou indiretamente (De Moraes Françaet al., 2014). Desta forma são necessários estudos com organismos ornamentais aquáticos testando produtos naturais que ajudem no desempenho produtivo e saúde.

Tilápia-do-Nilo

A tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) é nativa do centro e norte da África e Oriente Médio (Whyte, 1975). Peixe onívoro alimenta-se de fitoplâncton, perifíton, plantas aquáticas, invertebrados de pequeno tamanho, organismos bentônicos, detritos e pequenos peixes (FAO, 2012). Porém, adapta-se rapidamente ao alimento artificial.

A tilápia-do-Nilo é uma das espécies mais produzidas na aquicultura mundial (FAO, 2014). No Brasil corresponde ao 43,1% dos peixes produzidos em cativeiro, seguida pelo tambaqui (22,6%) e pelos híbridos tambacu e tambatinga (15,4%). Os Municípios de maior produção de tilápia-do-Nilo no Brasil em 2013 foram Jaguaribara (CE), Santa Fé do Sul (SP) e Orós (CE) com 8,6%, 3,8% e 3,1% respectivamente (IBGE, 2014). Sua criação é realizada principalmente em viveiros escavados e tanques-rede. O primeiro sistema é caracterizado por menor densidade de estocagem comparada com o sistema em tanques-rede, onde a biomassa por unidade de volume é alta. Em sistema intensivo a tilápia-do-Nilo, em comparação de outras espécies cultivadas no Brasil, tem um ritmo de crescimento rápido (Furuyaet al., 2010).

A tilapicultura tem passado, com o decorrer do tempo, por uma melhora nas tecnologias de produção, além de produtores mais capacitados e responsáveis na utilização de insumos e o manejo (Scorvo-filho et al., 2010). Entretanto devido a o aumento da demanda de peixes (Jensenet al., 2014) e a crescente produção aquícola, os peixes estão sendo estocados em maior densidade (Garcia et al., 2013). O aumento da densidade pode proporcionar efeitos deletérios nas tilápias-

do-Nilo pelo estresse (Telli et al., 2014), resultando em peixes mais susceptíveis a patógenos e maiores mortalidades (Garcia et al., 2014)

Acará-bandeira

O acará-bandeira (*Pterophyllum scalare*) é nativo da bacia do rio Amazonas, principalmente no Peru, Colômbia e Brasil (Cachoet al., 2006). O Angelfish, como também é conhecido, faz parte da família Ciclidae que tem como principal característica a linha lateral interrompida e pode atingir 15 cm de comprimento. O corpo é lateralmente comprimido e com formato triangular sendo os mais comuns de cor prata com listras verticais pretas (Ribeiro et al., 2007). A reprodução do acará-bandeira é caracterizada pela complexidade comportamental no momento do acasalamento, envolvendo competição pelo território (Cachoet al., 2007). As larvas de acará-bandeira após um dia de eclosão já apresentam pigmentação, os olhos ficam totalmente pigmentados ao segundo dia de eclosão, e com cinco dias as larvas apresentam interesse pelo alimento vivo (Korzelecka-Orkisz et al., 2012). Esta espécie apresenta comportamento alimentar onívoro, porém existem relatos de maior crescimento quando tratados com alimento vivo, mas se adapta facilmente a alimentos artificiais (Takahashi et al., 2010).

Seu habitat natural são rios e lagos com pH ácido entre 3,8 e 4,9. Nas criações comerciais, o pH recomendado é de 6,8 (Korzelecka-Orkisz, 2012) e a temperatura entre 26 e 30°C, mas o peixe adulto resiste a temperaturas até 38°C (Pérez et al., 2003; Abdolbaghian et al., 2010).

A criação do acará-bandeira pode seguir os mesmos conceitos fundamentais dos sistemas de produção de peixes de corte, ou seja, densidade de estocagem, manejo alimentar, qualidade e quantidade de água. O sistema semi-intensivo é o que melhores resultados demonstrou quando comparado com o sistema intensivo. A presença de alimento vivo no sistema semi-intensivo possivelmente ajude no crescimento dos peixes (Ribeiro et al., 2008).

O acará-bandeira é uma das espécies tropicais mais vendidas e populares no mundo, devido ao seu comportamento social, rusticidade e beleza (Chapman et al., 1997). Segundo estatísticas realizadas no ano 2007, o total de exportações de acarás-bandeira feitas no estado do Amazonas foi de 6.834 unidades, seguido

pelo estado de Pará com 1.218 unidades exportadas, Rio de Janeiro 185 unidades e São Paulo 85 unidades, o restante foi dividido nos estados de Goiás e Espírito Santo. No Brasil, o total de acarás-bandeira exportados foi de 8.353 unidades (IBAMA, 2008).

Fitoterápicos na aquicultura

O uso de produtos químicos e antibióticos aumentou para tratar doenças que surgem nas pisciculturas (Doneet al., 2015). No entanto o uso destes produtos ocasiona problemas, como, a presença de resíduos na carne dos peixes restringindo a distribuição do produto pelo risco à saúde humana (Cabello et al., 2006; Zhaoet al., 2015), toxicidade em outros organismos aquáticos (Seoane et al., 2014) e resistência dos microorganismos oportunistas aos produtos (Mooreet al., 2014). Sendo assim é preciso procurar produtos alternativos que substituam os comumente usados na aquicultura.

A fitoterapia pode ser definida como o uso de plantas para prevenir, curar e tratar doenças. A medicina popular no Brasil é representada pela união de conhecimentos das etnias imigrantes e os povos autóctones que divulgaram as informações das ervas locais e seus usos (Lorenziet al., 2002).

O interesse pela fitoterapia tem-se intensificado nos últimos anos, pela facilidade da preparação, seguridade e pela resistência de micro-organismos patogênicos a medicamentos tradicionais (Kulkarniet al., 2013). Como resultado, vários textos científicos desta área foram publicados (Diaset al., 2009). Na aquicultura, aumentam os estudos com princípios ativos isolados de plantas, óleos essenciais e extratos vegetais, para tratar e prevenir doenças (Valladãoet al., 2015) e para melhorar desempenho produtivo. Em peixes ornamentais, além das propriedades anteriormente mencionadas, o emprego de fitoterápicos visa aumentar a pigmentação da pele.

Em toda a cadeia aquícola, extratos de plantas estão sendo usadas. Em ovos de *Carassius gibelio* infetados com *Saprolegnia australis*, o extrato de *Radix sanguisorbae* foi considerado alternativa terapêutica (Caoet al., 2013). No transporte de *Xiphophorus helleri*, peixe ornamental conhecido popularmente

como peixe espada o extrato aquoso de *Valeriana officinalis* é usado para diminuir o estresse (Abasali et al., 2010).

Para o tratamento da parasitose por *Ichthyophthirius multifiliis*, o pentagalol-glucose isolado da planta *Galla chinensis* tem apresentado bons resultados em *Ictalurus punctatus* (Zhang et al., 2013). Em *Oncorhynchus keta* e *Oncorhynchus masou* a imersão em solução ao 0,9% de *Camellia sinensis* foi 100% eficaz contra o mesmo parasito (Suzuki et al., 2006). A utilização do extrato aquoso de *Capsicum frutescens* (Ling et al., 2012) e extrato etanólico de *Magnolia officinalis* e *Sophora alopecuroides* (Yi et al., 2012) diminuíram a prevalência do parasito em “goldfish” (*Carassius auratus*).

Em estudo com *Oreochromis mossambicus* foi testado o extrato aquoso de folhas de *Eclipta alba*, conhecida popularmente como falsa margarida. O resultado demonstrou que a administração oral do extrato, aumentou a atividade da lisozima, produção de espécies reativas de oxigênio, mieloperoxidase e o peixe aumenta resistência contra *Aeromonas hydrophila* (Christy et al., 2007).

Thanikachalam et al. (2010) reportou em catfish africano (*Clarias gariepinus*) que a casca de alho incluída na alimentação não interferiu no crescimento. Porém, quando o alho em pó foi usado em cobia (*Rachycentron canadum*) demonstrou o contrário fazendo com que este peixe tivesse maior ganho de peso (Guo et al., 2015). Os dois estudos também revelaram que os peixes alimentados com dieta contendo alho diminuíram a mortalidade após desafio com *Aeromonas hydrophila* e *Streptococcus iniae* respectivamente. O alho utilizado em dietas de “guppy” (*Poecilia reticulata*) revelou-se como alternativa para o tratamento de peixes infectados com o parasito *Gyrodactylus turnbulli* (Schelke et al., 2013) e *Dactylogyrus* sp (Fridman et al., 2014).

Extrato etanólico e metanólico de *Azadirachta indica* (neem), *Ocimum sanctum* (manjerição cabeludo) e *Curcuma longa* (açafrão-da-terra) injetados intraperitonealmente em “goldfish” (*Carassius auratus*) podem influenciar positivamente nas atividades fagocítica, do burst respiratório, lisozima plasmática e protege os peixes expostos a *Aeromonas hydrophila* (Harikrishnan et al., 2009). O “nem” (*Azadirachta indica*) administrado oralmente também apresentou

resultados positivos em “goldfish” desafiados com *A. hydrophila*, aumentando a atividade fagocítica (Kumar et al., 2012).

Unha-de-gato (*Uncaria tomentosa*)

O gênero *Uncaria* é representado por aproximadamente 60 espécies, distribuídas principalmente nas Américas, podendo ser encontrada na África e Ásia (Zevallos-Pollito et al., 2010). A unha-de-gato como é conhecida popularmente a *Uncaria tomentosa*, está distribuída entre Belize, Brasil, Guatemala, Peru, Venezuela, Trinidad e Suriname. Esta planta é utilizada pelos povos indígenas em tratamentos de abscessos, artrite, asma, inflamação do trato urinário e prevenção de outras doenças (Keplinger, 1998).

Os três princípios ativos característicos da unha-de-gato são alcalóides oxindólicos, derivados de ácido quinóico e polifenóis de baixo peso molecular. O principal alcalóide oxindólico presente na unha-de-gato é a mitrafilina, outros três alcalóides prevalecem como composto nas plantas do gênero *Uncaria*, rincofilina, isomitrafilina e isorincofilina (Heitzman et al., 2005). Os alcalóides oxindólicos contidos na *Uncaria tomentosa* estão em maior concentração quando comparada com *Uncaria guianensis* (Sandoval et al., 2002). Dentre os derivados de ácido quinóico estão glicopiranosil, fucopiranosil, galactopiranosil, quinovipiranosil e ramnopiranosil (Pavei et al., 2012) e os polifenóis de baixo peso molecular achados por Heitzman et al. (2005) são as catequinas, epicatequina e procianidina.

Estudos demonstraram os benefícios da unha-de-gato. A atividade anti-inflamatória da mitrafilina isolada da planta foi testada *in vivo* em ratos injetados com endotoxinas, este alcalóide oxindólico inibiu a produção do TNF α (fator de necrose tumoral) em 50% dos animais. *In vitro*, a mitrafilina reduziu a produção de IL-4 (Interleucina 4) envolvida nos processos alérgicos e inflamatórios. A unha-de-gato foi testada em enfermidades autoimunes como osteoartrite e pode oferecer uma nova ferramenta para controle de alergia e inflamação (Rojas-Duran et al., 2012).

Os polifenóis da unha-de-gato possivelmente podem-se unir fortemente a membrana das células vermelhas sanguíneas, protegendo os eritrócitos da

hemólise (Bors, 2011), mas a quantidade administrada deve ser testada para cada organismo, já que em altas concentrações os extratos da planta modificam o tamanho e forma dos eritrócitos humanos (Borset al., 2012)

A unha-de-gato, adicionada nas rações de *Litopenaeus vannamei*, camarão-de-patas-brancas, pode ser um produto para prevenir o vírus da mancha branca. Os camarões tratados com mistura de *Echinacea purpureae* e *Uncaria tomentosa* tiveram menor prevalência do mesmo vírus, comparados com o grupo controle onde todos os organismos apresentaram sinais clínicos da doença (Medina-Beltrán et al., 2012). Outro estudo confirmou os resultados anteriormente mencionados mas concluíram que os camarões tratados com unha-de-gato não melhoraram o desempenho produtivo. Porém ocorreu aumento significativo da fenoloxidase, enzima responsável pela fagocitose de microorganismos (Peraza-Gómez et al., 2014).

As soluções aquosas de unha-de-gato são consideradas de baixa perigosidade para o meio ambiente por ser produto natural. Estudos de concentração letal média classificaram o extrato aquoso de unha-de-gato pouco tóxico para o *Hyphessobrycon eques*, o peixe matogrosso (Yunis et al., 2014) e para microcrustáceo, *Daphnia magna* (Cala et al., 2013). *H. eques* e *D. magna* são dois bioindicadores comumente empregados como modelo em ensaios toxicológicos no Brasil.

Estudos toxicológicos agudos com extratos da planta demonstraram que concentrações muito altas são necessárias para eliminar 50% da população de alguns organismos. Tem sido reportada baixa toxicidade no fígado de ratos tratados com unha-de-gato por períodos subagudos, o que é refletido no aumento dos níveis de enzimas hepáticas como alanina transaminase (ALT) e aspartato transaminase (AST) (Ibrahim et al., 2009).

Objetivos gerais

- Avaliar a suplementação da unha-de-gato em dietas para tilápias-do-Nilo sobre o desempenho produtivo, perfil hematológico e na atividade hepatotóxica.
- Identificar os efeitos da suplementação da unha-de-gato em dietas para o acará-bandeira no desempenho produtivo e estresse do transporte.

Objetivos específicos

- Avaliar o efeito da inclusão da unha-de-gato nos índices produtivos de tilápias-do-Nilo.
- Avaliar a série vermelha do sangue de tilápias alimentadas com diferentes níveis de unha-de-gato.
- Estudar os efeitos no perfil bioquímico de enzimas hepáticas e estrutura do fígado de tilápia-do-Nilo alimentadas com dietas suplementadas com unha-de-gato.
- Analisar o efeito da inclusão da unha-de-gato nas dietas de acará-bandeira sobre os índices produtivos.
- Avaliar a glicemia, após simulação de transporte em acarás-bandeira alimentados com dietas contendo unha-de-gato.
- Determinar o impacto de dietas suplementadas com unha-de-gato na estrutura do fígado do acará-bandeira.

Capítulo 1 – Inclusão da unha-de-gato (*Uncaria tomentosa*) em dietas para tilápias-do-Nilo

Revista: “Aquaculture (Amsterdam)”. IF: 1.828

Daniel L. Cala^{a,*}, João Batista Kochenborger Fernandes^a.

^aCentro de Aquicultura da Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, São Paulo, Brasil.

* Correspondência: Centro de Aquicultura da Universidade Estadual Paulista, Campus de Jaboticabal.

E-mail Autor: danielcala14@gmail.com

Resumo

A *Uncaria tomentosa*, conhecida popularmente como unha-de-gato, é utilizada pelas tribos da região amazônica por suas propriedades anti-inflamatórias e antioxidantes. Neste estudo objetivou-se avaliar o efeito de dietas suplementadas com unha-de-gato (*Uncaria tomentosa*) sobre o desempenho produtivo, perfil hematológico e aspectos hepatotóxicos em tilápias-do-Nilo. Foram utilizadas 320 tilápias-do-Nilo distribuídas em quatro blocos de peso (B1: 34,5±0,46; B2: 45,0±0,47; B3: 55,0±0,8; B4: 65,0±0,7 g), e quatro tratamentos: 0; 150; 300 e 450 mg de unha-de-gato / Kg⁻¹ de ração que foi administrada aos peixes até saciedade aparente às 9; 14 e 16:30 horas por 60 dias. Foram realizadas biometrias aos 0, 30 e 60 dias para coletar dados de desempenho produtivo, sangue e órgãos (fígado, baço, rim). Aos 30 dias, os peixes apresentaram redução no consumo médio de ração e conversão alimentar aparente (CAA) nos grupos alimentados com dietas contendo unha-de-gato. A proteína total (PT) e globulina foram maiores nos grupos suplementados com a planta. Teores de alanina transaminase, aspartato transaminase (AST), creatinina e albumina não apresentaram diferença entre os tratamentos. Aos 60 dias, não houve influência dos tratamentos nos índices produtivos, índices hematimétricos e no nível de glicemia. Os teores de AST, PT e globulinas foram maiores nos grupos suplementados com unha-de-gato. Foi observado na análise histopatológica de fígado, esteatose e congestão, sugerindo hepatotóxicidade produzida pela planta.

Os peixes aos 30 dias não apresentaram sinais de dano hepático, melhorando inclusive a CAA. Já aos 60 dias, os peixes apresentaram dano hepático e não apresentaram melhora no desempenho produtivo.

Palavras-Chaves: Peixes, fitoterapia, desempenho produtivo, fígado, histologia.

Abstract

This study aimed to evaluate the effect of diets containing cat's claw (*Uncaria tomentosa*, commonly known as cat's claw, is used by the tribes of the Amazon region for its anti-inflammatory and antioxidant properties. This study aimed to evaluate the effect of diets supplemented with cat's claw (*Uncaria tomentosa*) on performance, blood profile and hepatotoxic aspects in Nile tilapia. 320 Nile tilapia were distributed in four weight blocks (B1: 34.5 ± 0.46 ; B2: 45.0 ± 0.47 ; B3: 55.0 ± 0.8 ; B4: 65.0 ± 0.7 g) and four treatments: 0; 150; 300 and 450 mg of cat's claw/Kg of diet was fed *ad libitum* at 9; 14 and 16:30 hours for 60 days. Samplings were done at 0, 30 and 60 days to collect data of growth performance, blood and organs (liver, spleen, and kidney). At 30 days, fish presented a reduction of feed mean intake and feed conversion (CAA) in the groups fed diets containing cat's claw. Total protein (TP) and globulin were higher in the groups supplemented with the plant. Alanine transaminase, aspartate transaminase (AST), creatinine and albumin levels did not differ between treatments. At 60 days, there was no effect of the treatments on growth rates, RBC indices and blood glucose level. AST, TP and globulins were higher in the groups supplemented with cat's claw. It was observed on the histology of the liver, steatosis and congestion, suggesting hepatotoxicity produced by the plant. Fish at 30 days showed no signs of liver damage, including improving in CAA. At 60 days, fish presented liver damage and showed no improvement in growth performance.

Key Words: Fish, phytotherapy, productive performance, liver histology.

1. Introdução

A produção de tilápia-do-Nilo no Brasilé usualmente realizada em sistema de tanques rede, com densidades de 80 a 120 kg/m³(Da Silva Ayrozaet al., 2011). Estas altas densidades têm efeitos deletérios nas tilápias-do-Nilo devido ao estresse, prejudicando e alterando o perfil hematológico e a resposta imunológica (Telli et al., 2014), resultando em peixes mais susceptíveis a patógenos e, consequentemente, maior mortalidade (Garcia et al., 2014).

O uso de antibióticos como profiláticos ou curativo é comum nas pisciculturas (Done et al., 2015). No entanto, o uso destes produtos causa riscos para o ambiente, problemas na saúde humana, acúmulo de resíduos no filé dos peixes (Cabello et al., 2006; Zhao et al., 2015), toxicidade em outros organismos aquáticos (Seoane et al., 2014) e resistência dos microorganismos aos produtos usados (Moore et al., 2014).

A fitoterapia está sendo amplamente empregada na aquicultura como alternativa para prevenção e controle de doenças (Valladãoet al., 2015) e a unha-de-gato (*Uncaria tomentosa*) faz parte do grupo das plantas medicinais com características benéficas à saúde. Diferentes preparações da unha-de-gatocomo; infusão, decocção, pó ou xaropesão consumidos oralmente pelos povos indígenas da região Amazônica em tratamentos de abcessos, artrite, inflamação do trato urinário e prevenção de outras doenças (Keplingeret al., 1998).

Yunis et al. (2014) usando teste agudo, demonstraram que o extrato aquoso da unha-de-gato tem baixa toxicidade para*Hyphessobrycon eques*seguindo a classificação toxicológica de Zucker. (1985). Outros estudos demonstraram que a planta adicionada no alimento do camarão-de-patas-brancas (*Litopenaeus vannamei*) aumenta as enzimas responsáveis pela fagocitose de microorganismos (Peraza-Gómezet al., 2014). Em tilápias-do-Nilo alimentadas por três semanas com ração incluindo extrato hidro-etanólico desta planta foi demonstrado efeito positivo no ganho de peso eos centros melanomacrófagos foram maiores em tamanho nos grupos tratados. Neste mesmo estudo a imunoglobulina M no baço aumentou demonstrando sinais de intoxicação e lesões hepáticas (Yuniset al., 2013). Em ratos foi reportada baixa toxicidade no fígado dos animais tratados oralmente com solução de carboximetilcelulose e unha-de-gato, os quais

apresentaram maiores níveis de alanina transaminase (ALT) e aspartato transaminase (AST) quando comparados com os tratados só com carboximetilcelulose (Ibrahim et al., 2009).

Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito de dietas suplementadas com unha-de-gato sobre os índices produtivos, perfil hematológico, e avaliação histopatológica e perfil enzimático do fígado de tilápias-do-Nilo

2. Material e Métodos

2.1. Animais e modelo experimental

O experimento foi desenvolvido no Laboratório de Peixes Ornamentais do Centro de Aquicultura da Universidade Estadual Paulista, Campus de Jaboticabal. Foram utilizadas 320 tilápias-do-Nilo masculinizadas da linhagem GIFT distribuídas em quatro blocos de peso (B1: $34,5 \pm 0,46$; B2: $45,0 \pm 0,47$; B3: $55,0 \pm 0,8$; B4: $65,0 \pm 0,7$ g), com quatro tratamentos 0; 150; 300 e 450 mg de unha-de-gato/ Kg^{-1} de ração. Os níveis de inclusão foram obtidos a partir do trabalho desenvolvido por Yunis et al. (2013) em tilápias-do-Nilo alimentadas por três semanas. Os peixes inicialmente foram pesados para depois serem distribuídos em 16 tanques de alvenaria com capacidade de 1500 litros com 20 peixes em cada parcela experimental. Antes de iniciar o experimento os peixes passaram por um período de adaptação de 15 dias alimentados com ração controle.

A alimentação dos peixes foi realizada até saciedade aparente às 9; 14 e 16:30 horas, por 60 dias. A cada 30 dias, três peixes de cada tanque foram anestesiados com uma dose de 100 mg/L de benzocaína (Gomes et al., 2001.), sendo posteriormente os peixes foram pesados, medidos e foram coletadas amostras de sangue por punção caudal. O sangue foi distribuído em microtubos com EDTA (10%) para análises hematológicas e em microtubos sem anticoagulante para obtenção de soro para análises bioquímicas. Finalmente, foi realizada eutanásia pelo aprofundamento do plano anestésico em solução aquosa de benzocaína 200 mg L^{-1} e posterior coleta de órgãos para histologia.

2.2. Monitoramentos das condições ambientais

Diariamente a temperatura e o oxigênio dissolvido da água foram mensurados com oxímetro YSI 55 (YSI Company, USA). O pH e a condutividade foram determinados semanalmente com auxílio da sonda multiparametros YSI 63 (YSI Company, USA) e uma vez por semana foram coletadas amostras de água aleatoriamente para determinar a concentração de nitritos e nitratos, utilizando o método de Golterman et al. (1978), por meio de espectrofotômetro Hach modelo DR/2000. A amônia foi determinada seguindo a metodologia de Solorzano (1972) e a quantificação da alcalinidade da água segundo o protocolo de Boyd (1990).

2.3. Material vegetal e extração

A casca desidratada de *U. tomentosa* usada neste estudo, foi proveniente do Peru e adquirida na empresa de ervas medicinais e suplementos alimentares “Casa Massaro” (Lote: 0442, Ribeirão Preto, São Paulo). Para preparação do extrato hidroetanólico, a casca foi moída e posteriormente deixada em solução de etanol e água numa proporção de 70:30 por cinco dias (Yunis et al., 2013) para depois ser adicionada na ração. A casca moída foi analisada pelo método de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE-PDA).

2.4. Preparação das dietas

A ração foi formulada de acordo com Furuya et al. (2010), atendendo as exigências nutricionais da tilápia-do-Nilo (Tabela 1). Para o processamento das rações, todos os ingredientes foram finamente moídos em moinho de martelo, com peneira de porosidade padrão de 0,5 mm de diâmetro, posteriormente pesados e homogeneizados em misturador de formato “Y”. A mistura foi peletizada em moinho de carne e depois secada em estufa de ventilação forçada (55°C), durante 24 horas.

Tabela 1 - Ingredientes e composição das dietas experimentais

Ingredientes %	Controle	150 mg/Kg⁻¹	300 mg/Kg⁻¹	450 mg/Kg⁻¹
Farelo de Soja	37,42	37,42	37,42	37,42
Farinha de peixe	2,50	2,50	2,50	2,50
Milho	21,88	21,88	21,88	21,88
Glúten	12,43	12,43	12,43	12,43
Farelo de trigo	7,12	7,12	7,12	7,12
Amido	8,00	8,00	8,00	8,00
Óleo de soja	4,00	4,00	4,00	4,00
Fosfato bicálcico	1,47	1,47	1,47	1,47
Min-peixes¹	0,50	0,50	0,50	0,50
Vit-peixes¹	0,50	0,50	0,50	0,50
L-treonina	0,23	0,23	0,23	0,23
DI-metionina	0,14	0,14	0,14	0,14
L-triptofano	0,05	0,05	0,05	0,05
BHT	0,05	0,05	0,05	0,05
Casca de arroz	3,71	3,695	3,68	3,665
Unha-de-gato	0,00	0,015	0,03	0,045
TOTAL	100,00	100,00	100,00	100,00
Composição química	%			
Matéria seca	89,63			
Proteína bruta	30,14			
Proteína digestível	27,5			
Extrato etéreo	5,04			
Energia bruta (kcal/kg)	4100			
Fibra bruta	4,81			
Material mineral	3,98			

¹Suplemento vitamínico mineral Rovimix peixe: vit. A: 5000.000 UI; vit. D3: 200.000 UI; vit. E: 5.000 UI; vit. K3: 1000 mg; vit. B1: 1500 mg; vit. B2: 1500 mg; vit. B6: 1500 mg; vit. B12: 4000 mg; vit. C: 15000 mg; ácido fólico: 500 mg; ácido pentotênico: 4000 mg; B.H.T.: 12,25 g; biotina: 50 mg; inositol: 1000 mg; nicotinamida: 7000mg; colina: 40 g; cobalto: 10 mg; cobre: 500 mg; ferro: 5000 mg; iodo 50 mg; manganês: 1500 mg; selênio: 10 mg; zinco: 5000 mg; veículo q. s. q. : 1000 mg. BHT: Butil-hidroxi-tolueno

2.5. Avaliação do desempenho produtivo

Após 30 e 60 dias, do início da alimentação em teste os peixes foram pesados em balança digital e medidos (comprimento padrão) com ajuda de ictiômetro. Para avaliação do desempenho foram considerados os seguintes índices:

- Sobrevivência (S): porcentagem de indivíduos que sobreviveram até o final de cada período experimental, obtida pela seguinte equação:

$$S (\%) = \frac{\text{número final de peixes}}{\text{número inicial de peixes}} * 100$$

- Ganho em peso médio (GPM):

$$\text{GPM} = \text{peso médio final} - \text{peso médio inicial}$$

- Consumo médio de ração (CMR)

$$\text{CMR (g/peixe)} = \frac{\text{consumo total de ração (g)}}{\text{número de peixes}}$$

- Conversão alimentar aparente (CAA) ou proporção entre CMR e o GPM:

$$\text{CAA} = \frac{\text{quantidade ração consumida (CMR)}}{\text{ganho de peso (GPM)}}$$

- Biomassa final (B):

$$B = \text{número final de peixes} \times \text{peso médio final}$$

Finalmente foram calculados os índices viscero-somático (IVS = Sistema digestivo), hepato-somático (IHS), e espleno-somático (IES). Por meio das equações:

$$IVS\% = \frac{\text{Peso Visceral (g)}}{\text{Peso corporal (g)}} * 100$$

$$IHS\% = \frac{\text{Peso tecido hepático (g)}}{\text{Peso corporal (g)}} * 100$$

$$IES\% = \frac{\text{Peso tecido esplênico (g)}}{\text{Peso corporal (g)}} * 100$$

2.6. Histopatologia de fígado

Fragmentos de fígados foram fixados em formol (10%) durante 24 para processamento histológico de rotina (Behmer et al., 1976). Para a obtenção de cortes em parafina com 5 mm de espessura, corado com hematoxilina-eosina avaliado em microscópio de luz, foi coletado um fragmento do tecido hepático do lóbulo ventral dos peixes. A leitura das laminais foi “cega” (Blind).

2.7. Avaliação do eritrograma e índices hematimétricos

O sangue foi coletado dos mesmos peixes usados para avaliar desempenho produtivo conforme descrito acima. Foi determinado o hematócrito (Goldenfarb et al., 1971), hemoglobina (Collier, 1944) e contagem total de eritrócitos (Campbell e Mader, 2006) utilizando a solução de Natt & Herrick como diluente e corante (Natt e Herrick, 1952).

Com os resultados da taxa da hemoglobina (Hb), número total de células (Er) e hematócrito (Ht) foram calculados os índices hematimétricos absolutos, volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina corpuscular média (HCM) e concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM), segundo as expressões:

$$VCM = \frac{Ht \cdot 10}{Er} = fL$$

$$HCM = \frac{Hb \cdot 10}{Er} = \mu g$$

$$CHCM = \frac{Hb \cdot 100}{Ht} = g/dL$$

2.8. Avaliações bioquímicas

O sangue coletado em microtubos sem anticoagulante foi centrifugado a 5000 rpm durante 10 minutos em centrifuga refrigerada (Eppendorf 5804R). Posteriormente, o soro foi retirado com micropipeta e redistribuído em microtubos.

Foram determinados os teores séricos de ALT, AST, creatinina, proteína total (PT), albumina e globulina. A globulina foi determinada pela seguinte fórmula (globulina g/dL = Proteína total g/dL - albumina g/dL). Para todas as demais análises foram utilizados reagentes comerciais padronizados (Labtest® – Labtest Diagnóstica 14 S. A. – Lagoa Santa – MG). As reações foram realizadas de acordo com as orientações do fabricante. As leituras foram feitas em espectrofotômetro semiautomático (Analisador Bioquímico Labquest® - Bioplus produtos para laboratório Ltda. – Barueri - SP) em comprimento de onda específico para cada parâmetro.

Para determinar a glicemia foi usada uma alíquota do sangue e avaliado com analisador rápido para glicose G-TECH (SD Biosensor, Inc – Coreia do Sul).

2.9. Análise estatística

Os dados obtidos foram submetidos a análise de variância (ANOVA). Nos tratamentos que apresentaram diferenças foi utilizado o teste de Tukey. Os dados percentuais foram transformados em arco seno antes da análise. As análises estatísticas foram realizadas pelo programa R statistic (versão 3.1.0).

3. Resultados

3.1 Parâmetros físico-químicos da água

Os valores dos parâmetros físico-químicos da água dos tanques experimentais estão representados na tabela 2. Todos os parâmetros estiveram dentro do recomendado para a tilápia-do-Nilo (Boyd e Massaut, 1999).

Tabela 2 – Valores médios $\pm$ desvio padrão das variáveis físico-químicas da água no sistema de recirculação de tilápias-do-Nilo alimentadas com dietas contendo unha-de-gato por 60 dias.

Parâmetro	Media
Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	$27 \pm 1,0$
Oxigênio (mg/L^{-1})	$4,6 \pm 0,3$
pH	$6,1 \pm 0,2$
Amônia (mg/L^{-1})	$0,26 \pm 0,04$
Nitrito (mg/L^{-1})	$0,021 \pm 0,003$
Nitrato (mg/L^{-1})	$0,72 \pm 0,01$
Alcalinidade (mg/L^{-1})	$15 \pm 2,0$

3.2 Princípios ativos da *Uncaria tomentosa*

As análises de cromatografia líquida de alta eficiência do extrato de unha-de-gato confirmaram a presença dos princípios ativos característicos desta planta. Os resultados demonstram a autenticidade e qualidade do produto usado neste experimento. Os três princípios observados foram alcaloides oxindólicos, polifenóis de baixo peso molecular e derivados de ácido quinóico. Os resultados estão apresentados na tabela 3.

Tabela 3 – Princípios ativos da unha-de-gato adicionada na ração, quantificados por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE-PDA)

Princípio ativo	Quantidade $\mu\text{g/ml}$
Alcaloides oxindólicos	$19,66 \pm 0,01$
Polifenóis de baixo peso molecular	$13,25 \pm 0,07$
Derivados de ácido quinóico	$7,46 \pm 0,01$

3.3. Desempenho produtivo

Os resultados do desempenho produtivo de tilápias-do-Nilo suplementadas por 30 dias demonstraram que os valores do consumo médio de ração (CMR) e conversão alimentar aparente (CAA) apresentaram diferença entre os tratamentos ($p < 0,05$). Nos grupos tratados com unha-de-gato estas variáveis diminuíram em relação ao grupo controle. O ganho de peso (GP), sobrevivência (S) e biomassa final (BF) das tilápias-do-Nilo não foram influenciados pelas dietas ($p > 0,05$). Os resultados de desempenho produtivo de tilápias-do-Nilo alimentadas por 60 dias não foram influenciados pelos tratamentos. Os resultados para os 30 e 60 dias estão apresentados na tabela 4.

Tabela 4. Valores médios e desvio padrão dos índices de desempenho produtivo

Tratamento		Parâmetro produtivo				
		CMR (g)	CAA	GP (g)	S (%)	BF (kg)
0 - 30 Dias	Controle	85,4 ± 13,6 ^a	1,3 ± 0,28 ^a	66,4 ± 11,2	100	2,4 ± 0,36
	T1	66,8 ± 8,5 ^b	0,8 ± 0,14 ^b	82,0 ± 16,9	100	2,6 ± 0,57
	T2	66,3 ± 12,5 ^b	0,8 ± 0,14 ^b	81,4 ± 1,70	100	2,6 ± 0,28
	T3	73,8 ± 11,9 ^b	0,9 ± 0,21 ^b	77,4 ± 8,20	100	2,5 ± 0,19
30 - 60 Dias	Controle	54,5 ± 8,80	0,58 ± 0,30	86,4 ± 16,7	97,5 ± 2,8	4,4 ± 1,4
	T1	43,5 ± 9,60	0,55 ± 0,12	79,5 ± 14,2	96,2 ± 2,5	4,1 ± 0,51
	T2	35,9 ± 10,87	0,51 ± 0,05	69,5 ± 19,6	100 0	3,9 ± 0,63
	T3	35,7 ± 16,48	0,44 ± 0,10	76,3 ± 26,0	97,5 ± 2,8	3,9 ± 0,74

Médias seguidas por letras distintas na vertical apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$). T1: 150; T2: 300; T3: 450 mg de unha-de-gato / kg⁻¹ de ração. Consumo médio de ração (CMR), conversão alimentar aparente (CAA), ganho de peso (GP), sobrevivência (S) e biomassa final (BF) de tilápias-do-Nilo alimentadas por 30 e 60 dias com dietas contendo níveis de unha-de-gato na ração.

Os índices viscero-somático (IVS), hepato-somático (IHS) e espleno-somático (IES) aos 30 e 60 dias não apresentaram diferenças ($p>0,05$) (Tabela 5).

Tabela 5. Valores médios e desvio padrão dos IVS, IHS e IES.

	Índice (%)	Tratamento			
		Controle	T1	T2	T3
30 Dias	IVS (%)	10,9 ± 1,80	10,8 ± 1,60	10,8 ± 1,80	10,9 ± 1,80
	IHS (%)	2,00 ± 0,10	1,90 ± 0,30	1,80 ± 0,50	1,90 ± 0,10
	IES (%)	0,07 ± 0,06	0,06 ± 0,06	0,07 ± 0,05	0,07 ± 0,07
60 Dias	IVS (%)	9,90 ± 1,00	10,1 ± 0,80	10,0 ± 1,00	10,2 ± 0,50
	IHS (%)	1,40 ± 0,40	1,40 ± 0,30	1,40 ± 0,30	1,50 ± 0,20
	IES (%)	0,04 ± 0,01	0,03 ± 0,01	0,04 ± 0,01	0,04 ± 0,01

T1: 150; T2: 300; T3: 450 mg de unha-de-gato / kg⁻¹ de ração. Índices viscero-somático (IVS), hepato-somático (IHS) e espleno-somático (IES) de tilápias-do-Nilo alimentadas por 30 e 60 dias com dietas contendo unha-de-gato.

3.4. Histopatologia do fígado

A avaliação histológica no fígado dos peixes usados neste estudo demonstraram esteatose nos grupos suplementados com 150, 300 e 450 mg de unha-de-gato / Kg de ração aos 60 dias, o grupo que foi alimentado com dietas livres do extrato da planta não apresentaram alterações hepáticas (figura 1). Aos 30 dias não houve interferência dos tratamentos.

3.5. Eritrograma e índices hematimétricos

Aos 30 e 60 dias de alimentação os resultados demonstraram que não houve influência da suplementação de dietas com unha-de-gato para tilápias-do-Nilo no perfil hematológico (Tabela 6).

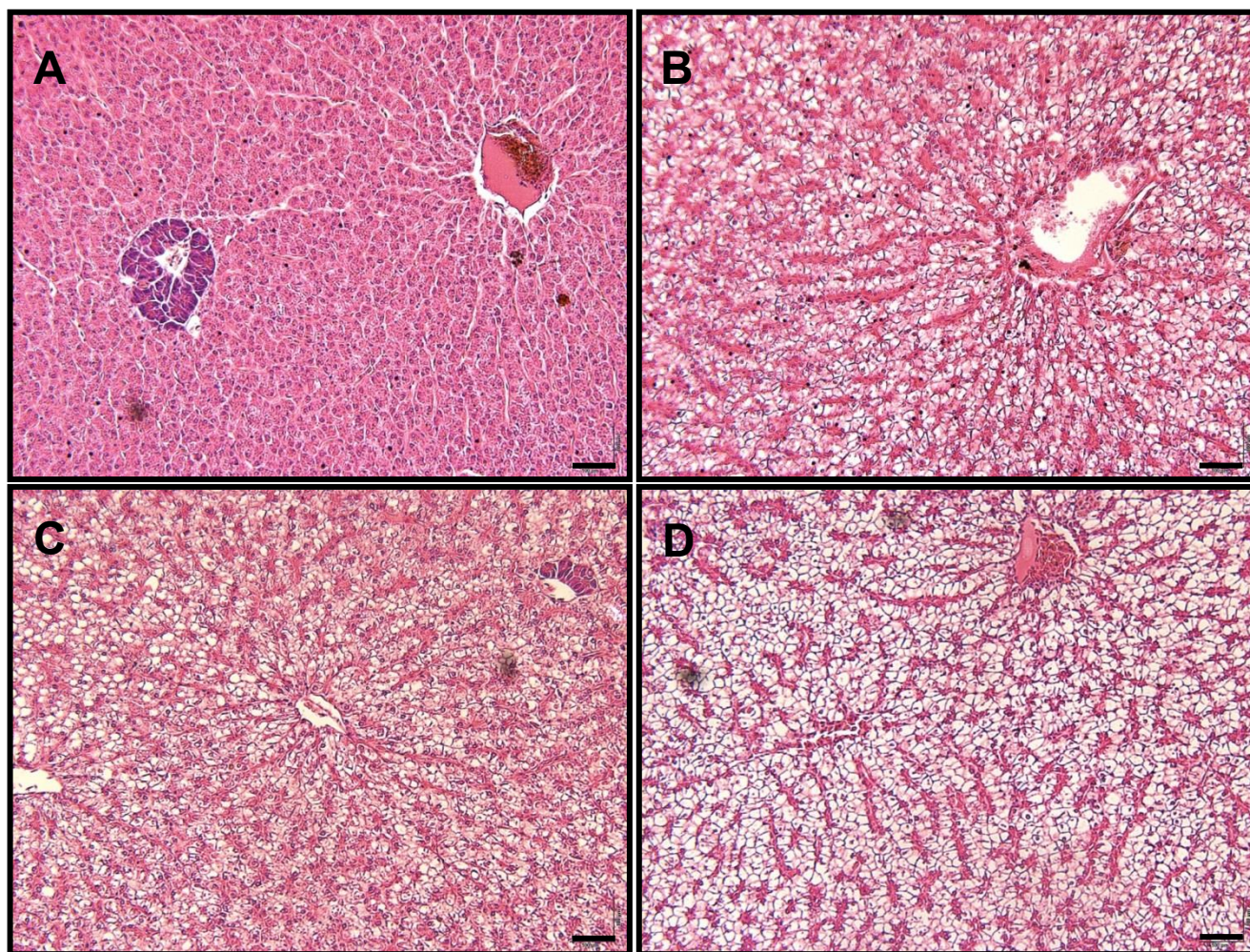


Figura 1. Fotomicrografia do fígado de tilápias-do-Nilo, No grupo controle (0 mg/kg) não foi observado alterações no tecido hepático (A). Os fígados de tilápias-do-Nilo suplementadas com dietas contendo extrato de unha-de-gato na concentração de 150 mg/kg (B), 300 mg/kg (C) e 450 mg/kg (D) observam-se esteatose difusa dos hepatócitos. Barra de escala 200 μ m.

Tabela 6 – Valores médios e desvio padrão do eritrograma e índices hematimétricos

Tratamento		Ht (%)	Hb (g.dL ⁻¹)	Er (x10 ⁴ µL ⁻¹)	VCM (fL)	HCM (pg)	CHCM (g.dL ⁻¹)
30 Dias	Controle	44,5±6	9,8±1,4	154,2±24,7	2,9±0,7	0,6±0,1	22,4±4,2
	T1	44±6,5	10,3±1,5	162,2±12,6	2,7±0,4	0,6±0,1	23,7±4,8
	T2	47,9±7,8	10,6±1,0	167,5±30,2	2,9±0,6	0,6±0,1	22,7±3,9
	T3	45,8±7,5	10,9±1,0	174,3±21,5	2,6±0,5	0,6±0,1	24,3±4,1
Tratamento		Ht (%)	Hb (g.dL ⁻¹)	Er (x10 ⁴ µL ⁻¹)	VCM (fL)	HCM (pg)	CHCM (g.dL ⁻¹)
60 Dias	Controle	48,7±5,0	10,7±2,2	162,3±25,8	3,07±0,5	0,68±0,2	22,4±5,8
	T1	47,3±6,0	10,01±0,7	166±16,7	2,86±0,3	0,61±0,05	21,3±2,1
	T2	48,9±6,4	11,06±1,4	154,5±23,4	3,2±0,7	0,73±0,15	22,7±2,8
	T3	51±6,4	11,13±1,3	171,8±17,6	2,9±0,3	0,6±0,11	22,1±3,9

Os valores seguidos por letras distintas diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). T1: 150; T2: 300; T3: 450 mgde unha-de-gato / kg de ração. Ht: hematócrito; Hb: hemoglobina; Er: eritrócito; VCM: volume corpuscular médio; HCM: hemoglobina corpuscular média e CHCM: concentração de hemoglobina corpuscular média de tilápias-do-Nilo alimentadas com dietas suplementadas com unha-de-gato por 30 e 60 dias.

3.6. Análises bioquímicas

Os resultados das análises bioquímicas do sangue de tilápias-do-Nilo suplementadas por 30 e 60 dias estão apresentados na tabela 7. Os teores séricos de proteínas totais e globulina apresentaram diferenças aos 30 dias ($p < 0,05$). Os valores de ALT, AST, albumina, creatinina e glicemia avaliados no perfil bioquímico de tilápias-do-Nilo alimentadas por 30 dias com dietas suplementadas com unha-de-gato não apresentaram diferenças entre os tratamentos. As análises realizadas aos 60 dias apresentaram diferenças nos teores de AST, proteínas totais, globulina e glicemia. Os resultados aos 60 dias demonstraram aumento nos teores de AST nos grupos tratados com 300 e 450 mg/Kg quando comparados ao grupo controle e o 150 mg/kg⁻¹. A glicemia plasmática aos 60 dias foi menor no grupo alimentado com 450 mg/kg comparado com o grupo controle. Os valores de ALT, albumina e creatinina de tilápias-do-Nilo alimentadas por 60 dias com dietas suplementadas com unha-de-gato não apresentaram diferenças entre os tratamentos.

Tabela 7 – Valores médios e desvio padrão análises bioquímico

Tratamento		ALT (U/L)	AST (U/L)	PT (g/dL)	Alb (g/dL)	Glo (g/dL)	Creatinina (mg/dL)	GP (mg dL-1)
30 Dias	Controle	15,7±6,3	77,2±39,38	3,0±0,3 ^b	0,74±0,09	2,3±0,2 ^b	0,32±0,04	91,3±20,8
	T1	13,0±7,2	47,14±36,57	3,4±0,5 ^{ab}	0,75±0,14	2,7±0,5 ^{ab}	0,31±0,07	87,9±10,9
	T2	12,6±8,1	64,1±39,0	3,0±0,2 ^b	0,75±0,10	2,3±0,1 ^b	0,29±0,06	96,6±18,4
	T3	11,7±5,5	60±48,7	3,5±0,4 ^a	0,66±0,19	2,8±0,5 ^a	0,34±0,04	82,2±23,7
Tratamento		ALT (U/L)	AST (U/L)	PT (g/dL)	Alb (g/dL)	Glo (g/dL)	Creatinina (mg/dL)	GP (mg dL ⁻¹)
60 Dias	Controle	13,5±5,6	33,17±18,4 ^b	3,0±0,3 ^b	0,71±0,10	2,36±0,25 ^b	0,31±0,07	94±9,4 ^a
	T1	12,6±5,6	68,09±43,7 ^{ab}	3,4±0,6 ^{ab}	0,72±0,11	2,72±0,67 ^{ab}	0,30±0,06	86,8±8,5 ^{ab}
	T2	16,1±6,3	76,39±53,2 ^a	2,9±0,3 ^b	0,69±0,10	2,29±0,24 ^b	0,29±0,03	92,1±11 ^{ab}
	T3	16,1±9,0	86,42±83,4 ^a	3,5±0,3 ^a	0,64±0,10	2,92±0,41 ^a	0,32±0,04	83,9±8,3 ^b

Os valores seguidos por letras distintas diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST), proteínas totais (PT), albumina (Alb), globulinas (Glo), creatinina e glicemia plasmática (GP) de tilápias-do-Nilo alimentadas por 30 e 60 dias com dietas contendo unha-de-gato.

4. Discussão

O uso de plantas como profiláticos em animais deve estar sempre acompanhado de análises de identificação e quantificação de princípios ativos para confirmar a autenticidade do material utilizado e preservação da suascaracterísticas químicas (Karunamoorthiet al., 2012). Assim na preparação do extrato usado neste experimento, foi utilizada cromatografia líquida de alta eficiência a qual confirmou a autenticidade do extrato utilizado e que os princípios ativos foram preservados após o processamento. Os princípios quantificados neste experimento foram relatados anteriormente: alcalóides oxindólicos (Rojas-Duranet al., 2012; Mendeset al., 2014), derivados do ácido quinóico (Dietrichet al., 2014) e polifenóis de baixo peso molecular (Caonet al., 2014).

Aos 30 dias observou-se que as tilápias-do-Nilo reduziram o consumo médio de ração nos grupos suplementados com a planta. A conversão alimentar aparente melhorou ($p < 0,05$) nos peixes arraçados com as dietas experimentais comparado com o grupo controle. Porém, o ganho de peso não foi influenciado pelos tratamentos. Resultado similares foram apresentados anteriormente por Yuniset al. (2013), onde foi relatado aumento nos índices produtivos em tilápias-do-Nilo alimentadas por três semanas com as mesmas concentrações usadas neste experimento. Este maior desempenho foi relacionado ao aumento do tamanho das vilosidades intestinais nos grupos tratados com a planta. Do mesmo

modo, no presente experimento é possível que a redução numérica do CAA esteja relacionada à mesma causa somada ao aumento da condição fisiológica dos animais (Pohlenz et al., 2014). O menor CMR pode estar relacionado à baixa palatabilidade da ração (Nagel et al., 2012). Porém, o ganho de peso e biomassa final apesar de não apresentar diferenças significativas entre os tratamentos, sugere que houve aumento da absorção de nutrientes nos peixes suplementados com a unha-de-gato.

Aos 60 dias não foi observada interferência dos tratamentos nos índices produtivos, sendo este o primeiro relato de desempenho produtivo em peixes suplementados por 60 dias com unha-de-gato.

Os índices viscero, hepato e espleno-somáticos não apresentaram diferenças entre os tratamentos, indicando que a alimentação de tilápias-do-Nilo por 60 dias com dietas suplementadas com unha-de-gato não interferiu nestas variáveis, como foi observado por Ibrahim et al. (2009) em que ratos machos alimentados com ração contendo unha-de-gato apresentaram índices hepato e espleno-somático incrementados em relação ao grupo controle.

Sheng et al. (2000) reportaram que não houve alterações histopatológicas nem nos teores de AST e ALT em ratos suplementados com produto comercial contendo a planta. Yunis et al. (2014) reportaram que o extrato aquoso da planta é pouco tóxica para *Hyphessobrycon eques*. No entanto, Mendes et al. (2014) concluíram que a unha-de-gato (150 mg/Kg^{-1}) pode apresentar sinais de toxicidade hepática em camundongos, eles relataram altos níveis de AST e ALT em animais alimentados com o extrato da planta por 90 dias. Também foram relatadas esteatose de hepatócitos relacionados a esteatose nos animais tratados. Yunis et al (2013) descreveram leve esteatose hepática de tilápias-do-Nilo alimentadas por três semanas com 75 e 150 mg de unha-de-gato.

Na histopatologia de fígado deste estudo pode-se observar esteatose severa e difusa que pode ser explicado pelo uso prolongado da unha-de-gato como agente tóxico direto por interferência nos níveis de desidrogenase mitocondrial (Rinner et al., 2009), enzima indispensável para formação de acetil-CoA sintase, a qual participa no metabolismo degradativo dos lipídeos de reserva e finalmente termina no acúmulo de gordura. No entanto, o acúmulo de gordura tecidual não

interferiu no índice hepato-somático, mas é possível que a esteatose seja a principal causa de aumento da AST como foi observado neste estudo. Estes acúmulos de lipídeos também podem ser responsáveis pelo aumento de proteínas totais e globulinas. Os resultados de AST foram similares aos de ratos suplementados com a planta, os quais aumentaram os níveis de ALT/AST (Ibraimet al., 2009).

Alterações no hemograma são indicadores de toxicidade. Alguns autores demonstraram que frações de unha-de-gato podem interferir no perfil hematológico *in vitro* (Borset al., 2012) e na agregação plaquetária (Jinet al., 1991; Chenet al., 1992). Porém, neste estudo o perfil hematológico não se alterou. Da mesma maneira, Yunis et al. (2013) não encontraram diferença no hematócrito e contagem total de eritrócitos das tilápias-do-Nilo tratadas com concentrações de até 450 mg de unha-de-gato / Kg de ração. Mendes et al. (2014) relataram que não houve diferença nos parâmetros hematológicos em ratos alimentados por 89 dias com 75 e 150 mg de unha-de-gato /Kg de peso vivo .

O aumento da glicemia é um indicador da resposta secundária ao estresse e está relacionada com a necessidade de energia do organismo (Mommset al., 1999; Lin et al., 2011). A glicemia sanguínea das tilápias-do-Nilo deste estudo foi semelhante em todos os tratamentos aos 30 dias, mas aos 60 dias o grupo tratado com 450 mg da unha de gato/kg de ração apresentou glicose sanguínea reduzida. É possível que os princípios ativos desta planta possam interferir na redução do estresse. Em ratos tratados com concentrações similares ao deste trabalho os efeitos da planta apresentaram diminuição no teor de glicose sanguínea quando alimentados por 90 dias, porém isto foi relacionado ao maior teor de insulina (Mendes, 2014). Sugere-se realizar estudos com os princípios isolados da planta, para determinar os componentes que provocam efeitos prejudiciais e benéficos para a saúde dos organismos.

5. Conclusão

O fornecimento do extrato da unha-de-gato por 30 dias foi benéfico para alguns índices produtivos e não foram observados efeitos deletérios nos animais. Porém aos 60 dias os princípios ativos da planta podem proporcionar efeitos

prejudiciais, no tecido hepático quando empregados em altas concentrações, mesmo assim, não interferiu nos perfis hematológicos, hematimétricos e no desempenho produtivo de tilápias-do-Nilo.

6. Referências Bibliográficas

- Behmer, O. A., de Tolosa, E. M. C., de Freitas Neto, A. G., 1976. Manual de técnicas para histologia normal e patológica. São Paulo Livraria Editora, 241.
- Bors, M., Sicińska, P., Michałowicz, J., Wieteska, P., Gulewicz, K., Bukowska, B., 2012. Evaluation of the effect of *Uncaria tomentosa* extracts on the size and shape of human erythrocytes (in vitro). Environmental toxicology and pharmacology 33, 127-134.
- Boyd, C. E., 1979. Water quality in warmwater fish ponds. Auburn University, Agricultural Experiment Station Auburn, Alabama, 359.
- Boyd, C. E., Massaut, L., 1999. Risks associated with the use of chemicals in pond aquaculture. Aquacultural Engineering 20, 113-132
- Cabello, F. C., 2006. Heavy use of prophylactic antibiotics in aquaculture: a growing problem for human and animal health and for the environment. Environmental microbiology 8, 1137-1144.
- Campbell, T.W., Mader, D.R., 2006. Chapter 55 - Hemoparasites, Reptile Medicine and Surgery (Second Edition). W.B. Saunders, Saint Louis, pp. 801-805.
- Cao, H., Ou, R., Li, G., Yang, X., Zheng, W., Lu, L., 2014. *Saprolegnia australis* RF Elliott 1968 infection in Prussian carp *Carassius gibelio* (Bloch, 1782) eggs and its control with herb extracts. Journal of Applied Ichthyology 30, 145-150.
- Caon, T., Kaiser, S., Feltrin, C., de Carvalho, A., Sincero, T. C. M., Ortega, G. G., Simões, C. M. O., 2014. Antimutagenic and antiherpetic activities of different preparations from *Uncaria tomentosa* (cat's claw). Food and Chemical Toxicology 66, 30-35.
- Chen, C.-X., Jin, R.-M., Li, Y., Zhong, J., Yue, L., Chen, S., Zhou, J., 1992. Inhibitory effect of rhynchophylline on platelet aggregation and thrombosis. Acta pharmacologica Sinica 13, 126-130.
- Collier, H. B., 1944. Standardization of blood haemoglobin determinations. Canadian Medical Association Journal 50, 550.
- Da Silva Ayroza, L. M., Romagosa, E., de Rezende, D. M. M., Ayroza, J. D. S. F., Salles, F. A., 2011. Custos e rentabilidade da produção de juvenis de tilápia-do-

nilo em tanques-rede utilizando-se diferentes densidades de estocagem. R. Bras. Zootec 40, 231-239.

Dietrich, F., Kaiser, S., Rockenbach, L., Figueiró, F., Bergamin, L. S., da Cunha, F. M., Morrone, F. B., Ortega, G. G., Battastini, A. M. O., 2014. Quinovic acid glycosides purified fraction from *Uncaria tomentosa* induces cell death by apoptosis in the T24 human bladder cancer cell line. Food and Chemical Toxicology 67, 222-229.

Done, H. Y., Halden, R. U., 2015. Reconnaissance of 47 antibiotics and associated microbial risks in seafood sold in the United States. Journal of hazardous materials 282, 10-17.

Garcia, F., Kimpara, J., Valenti, W., Ambrosio, L., 2014. Emergy assessment of tilapia cage farming in a hydroelectric reservoir. Ecological Engineering 68, 72-79.

Goldenfarb, P., Bowyer, F., Hall, E., Brosious, E., 1971. Reproducibility in the hematology laboratory: the microhematocrit determination. American Journal of Clinical Pathology 56, 35-39.

Golterman H, Clymo R, Ohsntad M. 1978. Methods for physical and chemical analysis of fresh waters. Blackwell Scientific Publications. 8, 213.

Gomes, L. C., Chippari Gomes, A. R., Lopes, N. P., Roubach, R., Araujo Lima, C. A., 2001. Efficacy of benzocaine as an anesthetic in juvenile tambaqui *Colossoma macropomum*. Journal of the World Aquaculture society 32, 426-431.

Ibrahim, K., Al-Ashban, R., El-Sammani, S., 2009. A Study of the Toxicity of Cat's Claw Herbal Medicine. Research Journal of Pharmacology 3, 52-57.

Jin R. M., Chen C. X., Li Y. K., Xu P. K., 1991. Effects of rhynchophylline on platelet aggregation and thrombosis. Acta Pharm Sin 26, 246-9.

Karunamoorthi, K., Tsehay, E., 2012. Ethnomedicinal knowledge, belief and self-reported practice of local inhabitants on traditional antimalarial plants and phytotherapy. Journal of ethnopharmacology 141, 143-150.

Keplinger, K., Laus, G., Wurm, M., Dierich, M. P., Teppner, H., 1998. *Uncaria tomentosa* (Willd.) DC. ethnomedicinal use and new pharmacological, toxicological and botanical results. Journal of Ethnopharmacology 64, 23-34.

Lin, Y. S., Tsai, S. C., Lin, H. C., Hsiao, C. D., Wu, S. M., 2011. Changes of glycogen metabolism in the gills and hepatic tissue of tilapia (*Oreochromis mossambicus*) during short-term Cd exposure. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology* 154, 296-304.

Mendes, P. F., Ponce, F., Fraga, D. D., Pípole, F., Perazzo, F. F., Hueza, I. M., 2012. High Doses of *Uncaria tomentosa* (Cat's claw) reduce blood glucose levels in rats. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* 6, 410-415.

Mommsen, T. P., Vijayan, M. M., Moon, T. W., 1999. Cortisol in teleosts: dynamics, mechanisms of action, and metabolic regulation. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 9, 211-268.

Moore, J. E., Huang, J., Yu, P., Ma, C., Moore, P. J., Millar, B. C., Goldsmith, C. E., Xu, J., 2014. High diversity of bacterial pathogens and antibiotic resistance in salmonid fish farm pond water as determined by molecular identification employing 16S rDNA PCR, gene sequencing and total antibiotic susceptibility techniques. *Ecotoxicology and environmental safety* 108, 281-286.

Nagel, F., Slawski, H., Adem, H., Tressel, R.-P., Wysujack, K., Schulz, C., 2012. Albumin and globulin rapeseed protein fractions as fish meal alternative in diets fed to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* W.). *Aquaculture* 354–355, 121-127.

Natt, M. P., Herrick, C. A., 1952. A new blood diluent for counting the erythrocytes and leucocytes of the chicken. *Poultry Science* 31, 735-738.

Peraza-Gómez, V., Luna-González, A., González-Prieto, J. M., Fierro-Coronado, A., González-Ocampo, H. A., 2014. Protective effect of microbial immunostimulants and antiviral plants against WSSV in *Litopenaeus vannamei* cultured under laboratory conditions. *Aquaculture* 420, 160-164.

Pohlenz, C., Gatlin Iii, D. M., 2014. Interrelationships between fish nutrition and health. *Aquaculture*, 431, 111-117.

Rinner, B., Li, Z. X., Haas, H., Siegl, V., Sturm, S., Stuppner, H., Pfragner, R., 2009. Antiproliferative and pro-apoptotic effects of *Uncaria tomentosa* in human medullary thyroid carcinoma cells. *Anticancer research* 29, 4519-4528.

Rojas-Duran, R., González-Aspajo, G., Ruiz-Martel, C., Bourdy, G., Doroteo-

Ortega, V., Alban-Castillo, J., Robert, G., Auberger, P., Deharo, E., 2012. Anti-inflammatory activity of Mitraphylline isolated from *Uncaria tomentosa* bark. Journal of ethnopharmacology 143, 801-804.

Sakakibara, I., Terabayashi, S., Kubo, M., Higuchi, M., Komatsu, Y., Okada, M., Taki, K., Kamei, J., 1999. Effect on locomotion of indole alkaloids from the hooks of *Uncaria* plants. phytomedicine 6, 163-168.

Seoane, M., Rioboo, C., Herrero, C., Cid, Á., 2014. Toxicity induced by three antibiotics commonly used in aquaculture on the marine microalga *Tetraselmis suecica* (Kylin) Butch. Marine environmental research 101, 1-7.

Sheng, Y., Pero, R., Wagner, H., 2000. Treatment of chemotherapy-induced leukopenia in a rat model with aqueous extract from *Uncaria tomentosa*. Phytomedicine 7, 137-143.

Solorzano L (1972) Determination of ammonia in natural waters by the phenylhypochlorite method. Limnol. Oceanogr. 14, 799 – 801.

Telli, G. S., Ranzani-Paiva, M. J. T., de Carla Dias, D., Sussel, F. R., Ishikawa, C. M., Tachibana, L., 2014. Dietary administration of *Bacillus subtilis* on hematology and non-specific immunity of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* raised at different stocking densities. Fish & shellfish immunology 39, 305-311.

Valladão, G., Gallani, S., Pilarski, F., 2015. Phytotherapy as an alternative for treating fish disease. Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics.

Yunis Aguinaga, J. 2013. Avaliação do crescimento e da atividade imune de tilápias-do-Nilo alimentadas com dietas suplementadas com unha-de-gato (*Uncaria tomentosa*). Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-graduação em Aquicultura do Centro de Aquicultura da Universidade Estadual Paulista (CAUNESP)/FCAV-UNESP, Jaboticabal, Sp, Brasil.

Yunis Aguinaga, J., Claudiano, G. S., Marcusso, P. F., Ikefuti, C., Ortega, G., Eto, S., da Cruz, C., Moraes, J., Moraes, F. R., Fernandes, J. B., 2014. Acute Toxicity and Determination of the Active Constituents of Aqueous Extract of *Uncaria tomentosa* Bark in *Hyphessobrycon eques*. Journal of toxicology 2014, 1-5

Zhao, J. L., Liu, Y. S., Liu, W. R., Jiang, Y. X., Su, H. C., Zhang, Q. Q., Chen, X. W., Yang, Y. Y., Chen, J., Liu, S. S., 2015. Tissue-specific bioaccumulation of

human and veterinary antibiotics in bile, plasma, liver and muscle tissues of wild fish from a highly urbanized region. *Environmental Pollution* 198, 15-24.

Zucker, E., 1985. Hazard Evaluation Division. Standard Evaluation Procedure, Acute toxicity test for freshwater fish.

Capítulo 2 –Suplementaçãoda unha-de-gato (*Uncaria tomentosa*) em dietas para acará-bandeira (*Pterophyllum scalare*)

Revista: “Natural Product Research”. IF: 1.225

Daniel Leonardo Cala Delgado^{a*}, João Batista Kochenborger Fernandes^a.

^a*Centro de Aquicultura da Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, São Paulo, Brasil.*

* E-mail Autor: danielcala14@gmail.com

Resumo

A *Uncaria tomentosa*, conhecida popularmente como unha-de-gato, é originária da Amazônia e apresenta propriedades profiláticas e terapêuticas em humanos e animais. O objetivo deste trabalho foi avaliar a inclusão da *Uncaria tomentosa*, em dietas para acará-bandeira (*Pterophyllum scalare*), sobre o desempenho produtivo e influência de simulação do transporte. Foram utilizados 400 peixes com peso médio inicial de $0,48 \pm 0,01$ g e comprimento padrão de $1,9 \pm 0,13$ cm, submetidos a diferentes níveis de inclusão da planta na dieta 0; 75; 150; 300 e 450 mg de *Uncaria tomentosa* / kg^{-1} de ração com quatro repetições em delineamento inteiramente casualizado. As biometrias dos peixes foram realizadas a cada 30 dias e neste intervalo quatro animais eram coletados e submetidos a eutanásia e para retirada de amostras de fígado para histologia. Ao final do experimento os peixes foram submetidos a simulação de transporte por 24 horas e em seguida avaliados a glicemia, mortalidade e variáveis físico-químicas da água. Os resultados obtidos demonstraram que a unha-de-gato não interferiu no desempenho produtivo do acará-bandeira. Porém, foi observado esteatose no tecido hepático, sugerindo que a planta pode ser hepatotóxica quando administrada por longos períodos, de forma crônica. Não houve diferença na glicemia nem nos parâmetros da qualidade da água entre os tratamentos após simulação de transporte por 24 horas.

Palavras-chaves: Desempenho produtivo; transporte; histologia hepática; peixe ornamental; nativo.

Abstract

Uncaria tomentosa, commonly known as cat's claw, is native from the Amazon and presents prophylactic and therapeutic properties in humans and animals. The objective of this study was to evaluate the inclusion of *Uncaria tomentosa*, in diets for freshwater angelfish (*Pterophyllum scalare*) on performance and influence in simulation of transport. They were used 400 fish with an average initial weight of 0.48 ± 0.01 g and standard length of 1.9 ± 0.13 cm, subjected to different levels of inclusion in the diet of the plant 0; 75; 150; 300 and 450 mg of *Uncaria tomentosa*/Kg of feed with four replications in a completely randomized design. Fish samplings were done every 30 days; four animals were collected and subjected to euthanasia and removal liver samples for histology. At the end of the experiment, fish were submitted to transport simulation for 24 hours and then evaluated blood glucose, mortality and physic-chemical parameters of water. The results showed that cat's claw did not affect the productive performance of angelfish. However, it was observed steatosis in liver tissue, suggesting that the plant can be hepatotoxic when administered for long periods of chronic way. There was no difference in blood glucose or in parameters of water quality between treatments after transport simulation for 24 hours.

Keywords: productive performance; transport; liver histology; ornamental fish; native.

1. Introdução

O mercado de peixes ornamentais é amplo, biodiverso e mundial (Tlustý et al., 2013), movimentando aproximadamente US\$ 500 milhões por ano (Dykman et al., 2012). O Brasil, em 2011, ocupou o segundo lugar, após a Colômbia, em exportação de peixes ornamentais na América Latina, alcançando a cifra de US\$ 7,3 milhões (FAO, 2012). O acará-bandeira (*Pterophyllum scalare*), também conhecido como angelfish, é um dos peixes amazônicos mais comercializados no mundo (IBAMA, 2008). O uso de extrato de plantas em dietas para peixes ornamentais amazônicos ainda é pouco estudado, sendo as áreas de maior interesse para os produtores destes peixes são o transporte, nutrição e prevenção de enfermidades (Gomes et al., 2009; Zuanon et al., 2011). O transporte é considerado um procedimento crítico, onde os peixes são submetidos a uma sequência de estímulos estressantes responsáveis por várias respostas fisiológicas deletérias como hiperglicemia e aumento de concentrações de lactato no sangue (Barton et al., 1991; Urbina et al., 2004).

Para reduzir o estresse durante o transporte e seus efeitos nos peixes ornamentais e de consumo usadas diferentes substâncias anestésicas como triclaína metano sulfonato (MS-222), benzocaína e lidocaína (Pramond et al., 2010; Park et al., 2009). Porém, são produtos importados com alto custo e em muitos casos de uso restrito (Roubach, 2001). Uma alternativa são os produtos naturais como o extrato de valeriana (*Valeriana officinalis*) avaliado no transporte de peixe-espada (*Xiphophorus helleri*), que diminuiu os níveis de cortisol sérico nos animais (Abasali et al., 2010).

O uso de aditivos no alimento para melhorar aspectos na nutrição animal é uma área em constante crescimento. Para a melhor e maior produção é necessário administrar dietas completas e balanceadas que ajudem na prevenção de doenças elevando o patamar homeostático dos peixes (Pohlenz et al., 2014), resultando também na melhora do desempenho produtivo (De Moraes França et al., 2014).

Estudos têm relatado melhora no desempenho produtivo em tilápias-do-Nilo alimentadas com dietas contendo unha-de-gato (Yunis et al., 2013). Outros estudos relataram que não há influência no desempenho produtivo em camarões

alimentados com a mesma planta (Medina-Beltrán et al., 2012, Peraza-Gómez et al., 2014).

A *Uncaria tomentosa*, conhecida popularmente como unha-de-gato, pertence à família Rubiácea, está distribuída nas florestas tropicais de América do Sul (Andersson et al., 1991). Por seus benefícios é usada por tribos indígenas como anti-inflamatório (Keplinger et al., 1998).

O objetivo deste trabalho foi avaliar o desempenho produtivo, histopatologia de fígado e simulação de transporte por 24 horas de acará-bandeira alimentados com dietas suplementadas com extrato de unha-de-gato.

2. Material e Métodos

2.1. Animais e delineamento experimental

O experimento foi desenvolvido no Laboratório de Peixes Ornamentais do Centro de Aquicultura da Universidade Estadual Paulista, Campus de Jaboticabal. Foi instalado um sistema de recirculação de água, composto por 20 aquários com capacidade volumétrica de 140 litros cada. Foram distribuídos 20 peixes por aquário ($0,48 \pm 0,01$ g de peso e $1,9 \pm 0,13$ cm comprimento padrão) em cinco grupos experimentais: controle, T1: 75mg/Kg; T2: 150mg/Kg; T3: 300mg/Kg; T4: 450mg/Kg⁻¹, baseados em Yunis et al. (2013). Foram utilizadas quatro repetições em delineamento inteiramente casualizado. Antes de iniciar o experimento os peixes passaram por período de adaptação de 15 dias alimentados com dieta basal.

A alimentação dos peixes foi realizada diariamente às 9; 14 e 16:30 horas, por 150 dias. Neste período foram feitas cinco biometrias, a cada 30 dias para avaliar a curva de crescimento dos peixes. Na última biometria foi realizada a eutanásia dos animais por meio de aprofundamento do plano anestésico em solução aquosa de benzocaína 200mg L⁻¹ para coleta do fígado. Ao final do experimento, foi realizada uma simulação de transporte por 24 horas.

Diariamente a temperatura e o oxigênio dissolvido da água foram mensurados com oxímetro YSI 55 (YSI Company, USA). O pH e a condutividade

foram medidos semanalmente com auxílio da sonda multiparametros YSI 63 (YSI Company, USA) e uma vez por semana foram coletadas amostras de água aleatoriamente para determinar a concentração de nitritos e nitratos, utilizando método de Golterman et al (1978) com espectrofotômetro Hach modelo DR/2000. A amônia foi determinada seguindo a metodologia de Solorzano (1972). A alcalinidade da água foi determinada seguindo o protocolo de Boyd (1984).

2.2. Material Vegetal e extração

A casca desidratada de *U. tomentosa* usada neste estudo, proveniente do Peru, foi adquirida na empresa de ervas medicinais e suplementos alimentares “Casa Massaro” (Lote: 0442 - Ribeirão Preto, São Paulo). Para preparação do extrato hidroetanólico, a casca foi moída e posteriormente deixada em solução de etanol e água em uma proporção de 70:30 por cinco dias (Yunis, 2013) para depois ser adicionada na ração. Posteriormente, foi analisado pelo método de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE-PDA). Os alcaloides oxindólicos foram os mais abundantes ($19,66 \pm 0,01 \mu\text{g/ml}$), seguido dos polifenóis de baixo peso molecular ($13,25 \pm 0,07 \mu\text{g/ml}$) e por ultimo os derivados de ácido quinóico ($7,46 \pm 0,01 \mu\text{g/ml}$).

2.3. Preparação das dietas

A ração experimental foi formulada de acordo com Zuanon et al, (2009), atendendo as exigências nutricionais do acará-bandeira (Tabela 1). O processamento das dietas foi realizado pela empresa de alimentos para peixes ornamentais Poytara, localizada no município de Araraquara, SP.

Tabela 1. Formulação e composição das dietas experimentais

Ingredientes %	Controle	T1	T2	T3	T4
Farinha de carne	13,8	13,8	13,8	13,8	13,8
Farelo de soja	30,5	30,5	30,5	30,5	30,5
Farelo de trigo	20	20	20	20	20
Milho	34,17	34,17	34,17	34,17	34,17
DL-Metionina	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35
L – Lisina	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35
Premix¹	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Sal	0,31	0,3025	0,295	0,28	0,265
BHT²	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
Unha-de-gato	0	0,0075	0,015	0,03	0,045
Total	100	100	100	100	100
Composição calculada					
Matéria seca (%)	89,53				
Extrato etéreo (%)	4,44				
Proteína bruta (%)	26,09				
Proteína digestível (%)	22,74				
Energia bruta (Kcal/kg)	3910,82				
Energia digestível (Kcal/kg)	3119,36				
Fibra bruta (%)	4,44				

¹Vitamina e Mineral Premix (Agromix): Níveis de garantia do produto: Vitaminas: A = 2.400.000,00 UI; B₁ = 4.000,00 mg; B₂ = 4.000,00 mg; B₁₂ = 8.000,00 mcg; C 60,00 g; B₂ = 4.000,00 mg; B₆ = 3.500,00 mg; D₃ = 600.000,00 UI; E = 30.000,00 UI; K₃ = 3.000,00 mg; Inositol = 25,00 g; Biotina = 200,00 mg; Colina 100,00 g; Ácido Fólico = 1200,00 mg; Ácido Nicotínico = 20,00 g; Ácido Pantatênico = 10.000,00 mg; Minerais: Co = 80,00 mg; Cu = 3.500,00 mg; Fe = 20,00 g; I = 160,00 mg; Mn = 10.000,00 mg; Se = 100,00 mg; Zn = 24,00 mg.

²Butil hidroxi tolueno

2.4. Avaliação do desempenho produtivo

Mensalmente foi realizada uma biometria de todos os peixes, que foram pesados em balança de precisão e medidos (comprimento padrão) com ajuda de ictiômetro. Foram avaliadas as seguintes variáveis de desempenho produtivo:

- Sobrevivência (S): porcentagem de indivíduos que sobreviveram até o final de cada período experimental, obtida pela seguinte equação:

$$S (\%) = \frac{\text{número final de peixes}}{\text{número inicial de peixes}} * 100$$

- Ganho em peso médio (GPM)

$$\text{GPM (g)} = \text{Peso médio final} - \text{Peso médio inicial}$$

- Consumo médio de ração (CMR)

$$\text{CMR (g/peixe)} = \frac{\text{consumo total de ração (g)}}{\text{número de peixes}}$$

- Conversão alimentar aparente (CAA)

$$\text{CAA} = \frac{\text{quantidade ração consumida}}{\text{ganho de peso (GPM)}}$$

- Biomassa final (B):

$$B = \text{Número final de peixes} \times \text{Peso total}$$

- Uniformidade dos lotes de peixe (U) obtida da equação proposta por Furuya (1998):

$$U = \frac{N_{\pm 20}}{N_t} * 100$$

Onde, $N_{\pm 20}$ = número de animais com peso total $\pm 20\%$ em torno da média da unidade experimental e N_t = número total de peixes por cada unidade experimental.

2.5. Histopatologia de fígado

Foi coletado o fígado de quatro peixes por tratamento a cada 30 dias para histopatologia (Behmeret al., 1976). Para este procedimento foi realizada a

CAUNESP

eutanásia por aprofundamento do plano anestésico em solução de benzocaína 200mg L⁻¹. Os fragmentos de fígado foram fixados em formaldeído 10% por 24 horas a seguir processados pelos métodos de rotina para obtenção de cortes em parafina com 5µm de espessura, corados com hematoxilina eosina.

2.6. Simulação de transporte

Depois de 150 dias de experimentação dos acarás-bandeira submetidos aos tratamentos, cinco peixes de cada parcela experimental foram colocados em jejum alimentar por 24 horas, depois foram embalados em sacos plásticos de cinco litros em densidades de 20g de peixe ·L⁻¹ (Limet al., 2003). As embalagens foram compostas por uma parte de água e duas de oxigênio, e depois colocadas em uma caixa de isopor para facilitar a movimentação sobre uma cadeira com rodas para cada 15 minutos ter um estímulo externo movimentando a cadeira de modo a simular o transporte.

A qualidade da água de transporte foi avaliada no início e após 24 horas de simulação do transporte. A temperatura e oxigênio dissolvido foram avaliados com oxímetro YSI 55 (YSI Company, USA) e o pH e a condutividade elétrica com sonda multiparamêtro YSI 63 (YSI Company, USA). Os níveis de amônia foram determinados seguindo a metodologia de Solorzano (1972). Nitritos e nitratos foram mensurados utilizando método de Golterman et al (1978) utilizando-se espectrofotômetro Hach modelo DR/2000. O protocolo de Boyd (1984) foi usado para quantificar alcalinidade da água. Após 24 horas da simulação de transporte foram avaliados novamente todas as variáveis anteriormente mencionadas e foi realizada eutanásia de dois peixes por unidade experimental como descrito anteriormente. Imediatamente foi coletado sangue por secção transversal no pedúnculo caudal para a determinação da glicemia. Foi utilizado analisador rápido para glicose G-TECH (SD Biosensor, Inc – Coreia do Sul).

2.7. Análises estatísticas

Os dados de indicadores de desempenho produtivo, glicemia e variáveis limnológicas foram submetidos a análise de variância (ANOVA). Os dados

percentuais foram transformados em arco seno antes da análise. As análises estatísticas foram realizadas pelo programa R statistic (versão 3.1.0).

3. Resultados e discussão

3.1. variáveis físico-químicas da água

No período experimental de 150 dias não foram observadas alterações na qualidade da água dos aquários experimentais que possam ter interferido no desempenho dos acará-bandeira. Os valores das variáveis hídricas determinadas nos meses do experimento estão descritos na tabela 2.

Tabela 2. Valores médios $\pm$ desvio padrão das variáveis físicas e químicas da água no sistema de recirculação, durante o período experimental.

Parâmetro	Media
Temperatura (°C)	26 $\pm$ 1,0
Oxigênio (mg/L ⁻¹)	5,9 $\pm$ 0,6
pH	6,6 $\pm$ 0,1
Condutividade (μS/cm ²)	22 $\pm$ 4,1
Amônia (mg/L ⁻¹)	0,13 $\pm$ 0,07
Nitrito (mg/L ⁻¹)	0,01 $\pm$ 0,001
Nitrato (mg/L ⁻¹)	0,52 $\pm$ 0,01
Alcalinidade (mg/L ⁻¹)	12 $\pm$ 2,0

A temperatura foi estável e conforme o recomendado para criação de acará-bandeira (Peréz et al., 2003; Abdolbaghian et al., 2010). Os valores de pH estiveram dentro da zona de conforto desta espécie (Korzelecka-Orkisz et al., 2012). Os valores de oxigênio dissolvido, condutividade e alcalinidade foram similares aos resultados obtidos por Ribeiro et al. (2009) em sistema de criação intensiva da mesma espécie de peixe em condições adequadas.

3.2. Desempenho produtivo

Os resultados de desempenho produtivo estão apresentados na tabela 3. Não houve influência dos tratamentos no peso médio final, comprimento padrão médio final (CPMF), sobrevivência, ganho de peso, conversão alimentar aparente

(CAA), consumo médio de ração (CMR), biomassa final e uniformidade dos lotes. Portanto a planta não pode ser considerada como promotora de crescimento.

Tabela 3. Valores médios e desvios padrão dos indicadores produtivos de acará-bandeira alimentados por 150 dias com dietas incluindo unha-de-gato.

Indicadores produtivos	Tratamentos				
	Controle	T1	T2	T3	T4
Peso médio final (g)	4,93 ± 0,47	5,11 ± 0,35	5,01 ± 0,52	4,990 ± 0,58	5,110 ± 0,64
Ganho de peso (g)	4,45 ± 0,47	4,63 ± 0,35	4,53 ± 0,52	4,510 ± 0,58	4,630 ± 0,64
CPMF (mm)	49,3 ± 1,48	49,12 ± 1,15	48,91 ± 2,3	48,77 ± 1,74	49,31 ± 1,91
Sobrevivência (%)	89,77 ± 7,7	92,42 ± 6,9	87,50 ± 7,7	84,84 ± 2,60	89,77 ± 13,0
CAA (g)	2,15 ± 0,26	2,14 ± 0,06	2,23 ± 0,13	2,310 ± 0,26	2,160 ± 0,01
CMR (g)	9,51 ± 0,79	9,92 ± 0,59	10,0 ± 0,86	10,34 ± 0,16	10,03 ± 13,9
Uniformidade dos lotes (%)	36,4 ± 11,6	39,03 ± 12,7	28,8 ± 10,0	28,75 ± 15,8	36,40 ± 11,64
Biomassa final (g)	97,4 ± 11,6	103,7 ± 12,7	95,9 ± 10,2	92,98 ± 14,8	99,73 ± 10,90

Comprimento padrão médio final (CPMF), conversão alimentar aparente (CAA), consumo médio de ração (CMR).

Os resultados obtidos contrastam com os de Yunis et al. (2013) que observaram quetilápias-do-Nilo alimentadas por três semanas com dieta suplementada com 150 mg de unha-de-gato/kg⁻¹ de ração, apresentaramo peso médio final maior (p<0,05) que nos demais tratamentos, possivelmente relacionado ao incremento no tamanho das vilosidades intestinais que permitem melhor absorção dos nutrientes (Yuniset al., 2013).

A sobrevivência dos acarás-bandeirasuplementados com níveis do extrato de unha-de-gato não apresentou diferença quando comparada com aqueles que receberam a dieta controle (p>0,05). A sobrevivência do camarão-de-patas-brancas (*Litopenaeus vannamei*) suplementado com a mesma planta também não apresentou diferença, quando estes foram expostos ao vírus da mancha branca (Medina-Beltranet al., 2012; Peraza-Gómezet al., 2014)

A adição de outros extratos de plantas medicinais em dietas para peixes podem afetar as características de produtividade. A inclusão de extrato de *Echinacea purpúrea* e *Panax ginseng*, em dietas para tilápias-do-Nilo (El-Sayed et al., 2014) e suplementação de dietas para aves poedeiras com chá verde (Abdo et

al., 2010) geraram redução no consumo de ração e piora na conversão alimentar. No presente estudo a unha-de-gato não provocou diminuição do consumo médio de ração indicando que os níveis de inclusão da planta foram baixos para possivelmente alterar a palatabilidade do alimento.

A comercialização de peixes ornamentais é realizada por lotes e a uniformidade é importante. Porém, neste estudo observou-se que a unha-de-gato presente na dieta não alterou a uniformidade dos lotes. A Biomassa final também não foi influenciada pelo extrato da planta incluída na ração.

3.3.Histopatologia de fígado

Mendes et al, (2014) relataram esteatose hepática, além de aumento das enzimas AST e ALT em ratos suplementados com 150 mg da planta / kg⁻¹ de peso de ratos administrada oralmente por 90 dias. Neste estudo foi observada esteatose difusa no fígado dos acarás-bandeira suplementados por períodos longos com diferentes níveis de unha-de-gato (Figura 1). Da mesma forma Yunis et al. (2013) reportaram achados similares em fígados de tilápias-do-Nilo alimentadas por três semanas com as mesmas concentrações.

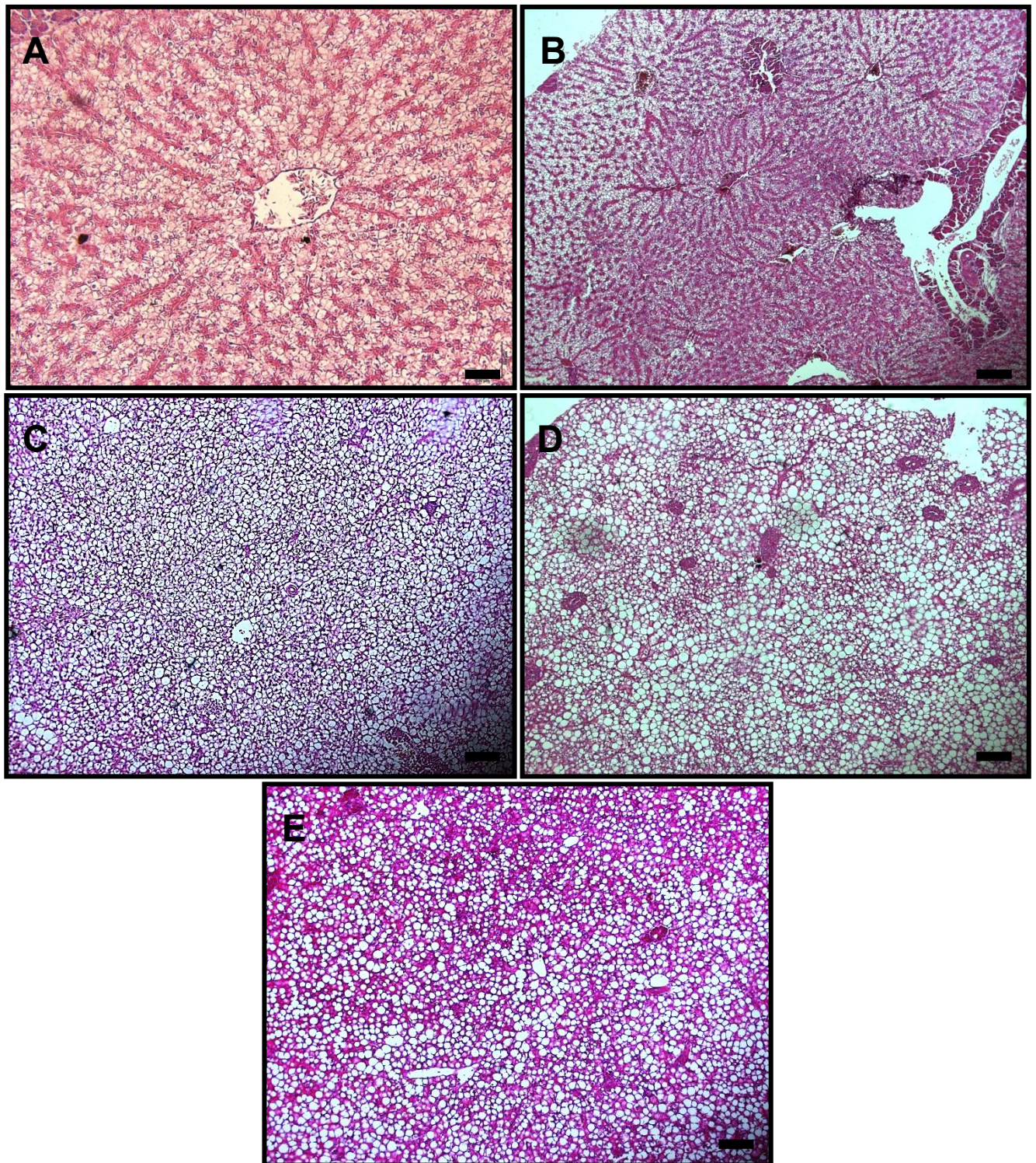


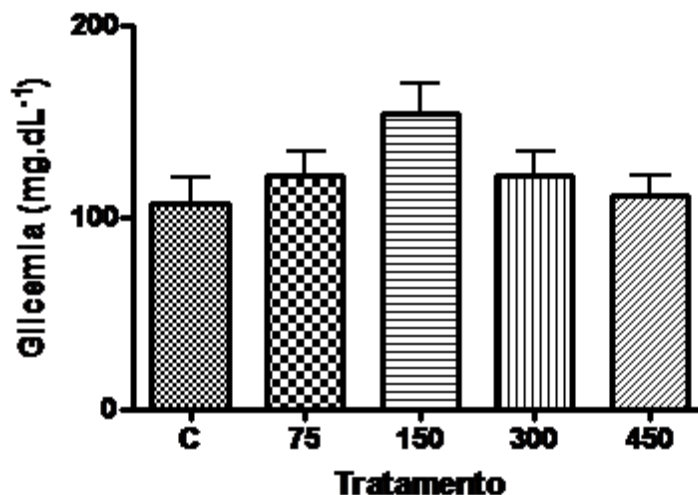
Figura 1. Fotomicrografia de fígados de *Pterophyllum scalare* após 150 dias de experimentação. (A) ração controle (0 mg/kg) foi observada leve esteatose no tecido hepático. (B) Com dieta contendo extrato de unha-de-gato na concentração de 75 mg/kg observou-se esteatose moderada. (C) Com 150 mg/kg (D) 300 mg/kg e (E) 450 mg/kg observaram-se esteatose severa e difusa.

3.4.Simulação de transporte

Os produtos naturais usados no transporte para amenizar o estresse são alternativa aos anestésicos uma vez que apresentam custos baixos e riscos de poluição menores (Gomes et al., 2009). Foi reportado em *Rhamdia quelen* o uso de óleo de cravo, óleo essencial de *Lippia alba* (Becker et al., 2012) e óleo essencial da *Aloysia triphylla* (Zeppenfeld et al., 2014). Todos eles demonstraram que os peixes tratados com extratos das plantas estiveram menos estressados após o transporte que os peixes dos grupos que não foram tratados. No presente estudo o perfil sanguíneo avaliado estava significativamente reduzido em especial a glicemia e o lactato. As variáveis físico-químicas da água como oxigênio dissolvido e amônia total no final do transporte foram menores nos tratamentos com fitoterápicos.

A glicose sanguínea é um indicador da resposta secundária ao estresse e está relacionada com a necessidade de energia do organismo (Mommset et al., 1999; Lin et al., 2011). Os resultados da glicemia dos acará-bandeira tratados com unha-de-gato por 150 dias, e posteriormente submetidos a simulação de transporte durante 24 horas não apresentaram diferença ($p > 0,05$) (Figura 2). As Variáveis físico-químicas da água após a simulação de transporte não apresentaram diferenças significativas entre os grupos (Tabela 4). A sobrevivência durante, após e passado sete dias da simulação do transporte não apresentou diferenças ($p > 0,05$) que comprovassem uma característica benéfica da planta na alimentação de acará-bandeira submetidos ao processo de estresse.

Figura 2. Glicemia de acará-bandeira alimentados por 150 dias com dietas suplementadas com unha-de-gato, determinada imediatamente depois da simulação de transporte por 24 horas.



Tratamentos: C: 0 mg/kg⁻¹; 75: 75 mg/kg⁻¹; 150: 150 mg/kg⁻¹; 300: 300 mg/kg⁻¹; 450: 450 mg de unha-de-gato / kg⁻¹

A metodologia da simulação de transporte usada neste experimento possivelmente não foi o suficiente para diminuir a glicemia plasmática nos tratamentos. A pouca movimentação dos peixes provavelmente não foi suficiente para agir como agente estressor e os peixes não tiveram muito gasto de energia o que não deixou que os tratamentos com a planta influenciassem nos resultados.

Tabela 4. Variáveis físico-químicas da água antes e depois da simulação de transporte (24 horas) de acará-bandeira alimentados durante 150 dias com dietas suplementadas com unha-de-gato

Parâmetros água	Antes do transporte	Depois do transporte				
		Controle	T1	T2	T3	T4
OD (mg/L)*	5,8 ± 0,30	5 ± 0,1	4,8 ± 0,2	4,9 ± 0,4	5,5 ± 0,1	5,2 ± 0,2
pH	6,6 ± 0,12	6,1 ± 0,2	6,1 ± 0,08	6,1 ± 0,25	6,2 ± 0,15	6,1 ± 0,1
T (°C)	26 ± 1,0	27,0 ± 0,7	27 ± 0,6	26,4 ± 0,7	26,3 ± 0,4	26,3 ± 0,4
Cond. (µS/cm ²)	10 ± 4,1	13,2 ± 12,0	13,7 ± 3,5	15,5 ± 14,2	10,5 ± 8,4	12,7 ± 5,8
Alcalinidade	12 ± 1,0	34,5 ± 0,5	35 ± 3,4	38,7 ± 1,8	32,7 ± 3,2	31,2 ± 1,5
Amônia (mg/L)	0,13 ± 0,07	0,28 ± 0,01	0,28 ± 0,09	0,28 ± 0,01	0,28 ± 0,06	0,28 ± 0,09
Nitrito (mg/L)	0,01 ± 0,01	0,1 ± 0,02	0,1 ± 0,03	0,4 ± 0,3	0,2 ± 0,3	0,30 ± 0,00
Nitrato (mg/L)	0,42 ± 0,01	0,51 ± 4,8	0,51 ± 0,03	0,52 ± 0,01	0,51 ± 0,04	0,51 ± 0,07

Os valores estão apresentados em médias e respectivos erros padrões.

OD: Oxigênio Dissolvido, T: Temperatura, Cond: Condutividade.

3. Conclusão

O emprego *Uncaria tomentosa* em dietas para acará-bandeira não interferiu nos índices de desempenho produtivo e na glicemia dos peixes após a simulação de transporte. As lesões hepáticas sugerem que a planta apresenta propriedades tóxicas, principalmente quando é usada por períodos prolongados.

4. Referências Bibliográficas

Abasali, H. & Mohamad, S. 2010. Effects of Using the *Valeriana officinalis* Extract During Transportation of Swordtail, *Xiphophorus helleri*. *Journal of Animal and Veterinary Advances*,9, 2377-2381.

Abdo, Z.M., Hassan, R., Amal, A. & Shahinaz, A. 2010. Effect of adding green tea and its aqueous extract as natural antioxidants to laying hen diet on productive, reproductive performance and egg quality during storage and its content of cholesterol. *Egyptian Poultry Science Journal*,30, 1121-1149.

Abdolbaghian, S., Jamili, S. & Matinfar, A. 2010. The effect of temperature and diet on the degrees of specific growth rate percentage (SGR%) and weight growth (WG%) of angel fish fry *Pterophyllum scalare*. *Journal of Fisheries and Aquatic Science*,5, 311-315.

Allen-Hall, L., Arnason, J. T., Cano, P., Lafrenie, R. M., 2010. *Uncaria tomentosa* acts as a potent TNF- α inhibitor through NF- κ B. *Journal of Ethnopharmacology* 127, 685-693,

Andersson, L. & Persson, C. 1991.Circumscription of the tribeCinchoneae (Rubiaceae)—a cladistic approach.*Plant Systematics and Evolution*,178, 65-94.

Barton, B.A. & Iwama, G.K. 1991.Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of corticosteroids.*Annual Review of Fish Diseases*,1, 3-26.

Becker, A.G., Parodi, T.V., Heldwein, C.G., Zeppenfeld, C.C., Heinzmann, B.M. & Baldisserotto, B. 2012. Transportation of silver catfish, *Rhamdia quelen*, in water with eugenol and the essential oil of *Lippia alba*. *Fish physiology and biochemistry*,38, 789-796.

Behmer, O., Tolosa, E.M.C., Freitas neto, A.G. 1976.Manual de técnicas para histologia normal e patológica. São Paulo: Edart, 239 p.

Boyd C. 1984. Water Quality in Warmwater Fish Ponds.Alburn, Alburn University, 359.

De Moraes França Ferreira, P., Da Silva Nascimento, L., Coelho Dias, D., Da Veiga Moreira, D.M., Lúcia Salaro, A., De Freitas, D., Bontempo, M., Souza

Carneiro, A.P. & Sampaio Zuanon, J.A. 2014. Essential Oregano Oil as a Growth Promoter for the Yellowtail Tetra, *Astyanax altiparanae*. *Journal of the World Aquaculture Society*, 45, 28-34.

Dykman, M. 2012. The environmental and economic benefits of eco-certification within the ornamental fish trade. *Int J Trade Econ Financ*, 3, 1-6.

El-Sayed, S.A., El-Galil, S.Y.A. & Rashied, N.A. 2014. Effects Of Some Herbal Plants As Natural Feed Additives In Comparison With Antibiotic On Growth Performance And Immune Status Of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). *International Journal of Research in Fisheries and Aquaculture*, 4 (1), 22-30.

FAO – Food Agriculture Organization of the United Nations. 2012. Fishery and Aquaculture Statistics 2012. 129. Disponível em: www.fao.org/3/a-i3740/index.html.

Golterman H, Clymo R, Ohsntad M. 1978. Methods for physical and chemical analysis of fresh waters. Blackwell Scientific Publications. 8, 213.

Gomes, L.C., Brinn, R.P., Marcon, J.L., Dantas, L.A., Brandão, F.R., De Abreu, J.S., Lemos, P.E.M., McComb, D.M. & Baldisserotto, B. 2009. Benefits of using the probiotic Efinol® L during transportation of cardinal tetra, *Paracheirodon axelrodi* (Schultz), in the Amazon. *Aquaculture Research*, 40, 157-165.

IBAMA - Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. 2008. Diagnóstico geral das práticas de controle ligadas a exploração, captura, comercialização, exportação e uso de peixes para fins ornamentais e de aquarofilia.

Keplinger, K., Laus, G., Wurm, M., Dierich, M.P. & Teppner, H. 1998. *Uncaria tomentosa* (Willd.) DC.—ethnomedicinal use and new pharmacological, toxicological and botanical results. *Journal of Ethnopharmacology*, 64, 23-34.

Korzelecka-Orkisz, A., Szalast, Z., Pawlos, D., Smaruj, I., Tański, A., Szulc, J. & Formicki, K. 2012. Early ontogenesis of the angelfish, *Pterophyllum scalare* Schultze, 1823 (Cichlidae). *Neotropical Ichthyology*, 10, 567-576.

Lim, L.C., Dhert, P. & Sorgeloos, P. 2003 Recent developments in the application of live feeds in the freshwater ornamental fish culture. *Aquaculture*, 227, 319-331.

Lin, Y. S., Tsai, S. C., Lin, H. C., Hsiao, C. D., Wu, S. M., 2011. Changes of CAUNESP

glycogen metabolism in the gills and hepatic tissue of tilapia (*Oreochromis mossambicus*) during short-term Cd exposure. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology* 154, 296-304.

Medina-Beltrán, V., Luna-González, A., Fierro-Coronado, J.A., Campa-Córdova, Á.I., Peraza-Gómez, V., Del Carmen Flores-Miranda, M. & Rivera, J.N.G. 2012. *Echinacea purpurea* and *Uncaria tomentosa* reduce the prevalence of WSSV in whiteleg shrimp (*Litopenaeus vannamei*) cultured under laboratory conditions. *Aquaculture*, 358, 164-169.

Mommsen, T. P., Vijayan, M. M., Moon, T. W., 1999. Cortisol in teleosts: dynamics, mechanisms of action, and metabolic regulation. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 9, 211-268.

Park, I., Park, M., Hur, J., Kim, D., Chang, Y., Kim, Y., Park, J. & Johnson, S. 2009. Anesthetic effects of lidocaine-hydrochloride on water parameters in simulated transport experiment of juvenile winter flounder, *Pleuronectes americanus*. *Aquaculture*, 294, 76-79.

Peraza-Gómez, V., Luna-González, A., González-Prieto, J.M., Fierro-Coronado, A. & González-Ocampo, H.A. 2014. Protective effect of microbial immunostimulants and antiviral plants against WSSV in *Litopenaeus vannamei* cultured under laboratory conditions. *Aquaculture*, 420, 160-164.

Pérez, E., Díaz, F. & Espina, S. 2003. Thermoregulatory behavior and critical thermal limits of the angelfish *Pterophyllum scalare* (Lichtenstein) (Pisces: Cichlidae). *Journal of Thermal Biology*, 28, 531-537.

Pohlenz, C., Gatlin III, D. M., 2014. Interrelationships between fish nutrition and health. *Aquaculture*, 431, 111-117.

Pramod, P., Sajeevan, T., Ramachandran, A., Thampy, S. & Pai, S.S. 2010. Effects of two anesthetics on water quality during simulated transport of a tropical ornamental fish, the Indian tiger barb *Puntius filamentosus*. *North American Journal of Aquaculture*, 72, 290-297.

Ribeiro, F.D.a.S., De Lima Preto, B. & Fernandes, J.B.K. 2009. Sistemas de criação para o acará-bandeira (*Pterophyllum scalare*). *Acta Scientiarum. Animal sciences*, 30, 459-466.

Roubach R, Gomes L. 2001. Uso de anestésicos durante o manejo de peixes. *Panorama da aquicultura*. 11, 37 - 40

Sheng, Y., Pero, R. & Wagner, H. 2000. Treatment of chemotherapy-induced leukopenia in a rat model with aqueous extract from *Uncaria tomentosa*. *Phytomedicine*, 7, 137-143.

Solorzano L (1972) Determination of ammonia in natural waters by the phenylhypochlorite method. *Limnol. Oceanogr.* 14, 799 – 801.

Thlusty, M.F., Rhyne, A.L., Kaufman, L., Hutchins, M., Reid, G.M., Andrews, C., Boyle, P., Hemdal, J., McGilvray, F. & Dowd, S. 2013. Opportunities for public aquariums to increase the sustainability of the aquatic animal trade. *Zoo biology*, 32, 1-12.

Urbinati, E.C., De Abreu, J.S., Da Silva Camargo, A.C. & Parra, M.a.L. 2004. Loading and transport stress of juvenile matrinxã (*Brycon cephalus*, Characidae) at various densities. *Aquaculture*, 229, 389-400.

Yunis Aguinaga, J. 2013. Avaliação do crescimento e da atividade imune de tilápias-do-Nilo alimentadas com dietas suplementadas com unha-de-gato (*Uncaria tomentosa*). Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-graduação em Aquicultura do Centro de Aquicultura da Universidade Estadual Paulista (CAUNESP)/FCAV-UNESP, Jaboticabal, Sp, Brasil.

Zeppenfeld, C.C., Toni, C., Becker, A.G., Dos Santos Miron, D., Parodi, T.V., Heinzmann, B.M., Barcellos, L.J.G., Koakoski, G., Da Rosa, J.G.S. & Loro, V.L. 2014. Physiological and biochemical responses of silver catfish, *Rhamdia quelen*, after transport in water with essential oil of *Aloysia triphylla* (L'Herit) Britton. *Aquaculture*, 418, 101-107.

Zuanon, J.a.S., Salaro, A.L., Moraes, S.S.S., Alves, L.M.D.O., Balbino, E.M. & Araújo, E.S. 2009. Dietary protein and energy requirements of juvenile freshwater angelfish. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 38, 989-993.

Zuanon, J. A. S., Salaro, A. L., Furuya, W. M., 2011. Produção e nutrição de peixes ornamentais. *Revista Brasileira de Zootecnia* 40, 165-174.

Considerações finais

No presente trabalho a tilápia-do-Nilo respondeu positivamente à administração de ração suplementada com unha-de-gato (*Uncaria tomentosa*) pelo período de dois meses, proporcionando benefícios no crescimento apesar de ocorrer sinais de hepatotoxicidade. Por isto é recomendado mais estudos para avaliar (refinar) os níveis de administração assim como o tempo de fornecimento desta planta aos peixes. Outros aspectos que também devem ser avaliados são a viabilidade econômica e pesquisas com os princípios ativos isolados da unha-de-gato de forma a buscar a melhor resposta destes compostos separadamente.

Referências complementares

Abasali, H. & Mohamad, S. 2010. Effects of Using the *Valeriana officinalis* Extract During Transportation of Swordtail, *Xiphophorus helleri*. *Journal of Animal and Veterinary Advances*,9, 2377-2381.

Abdolbaghian, S., Jamili, S. & Matinfar, A. 2010. The effect of temperature and diet on the degrees of specific growth rate percentage (SGR%) and weight growth

(WG%) of angel fish fry *Pterophyllum scalare*. *Journal of Fisheries and Aquatic Science*,5, 311-315.

Bors, M., Bukowska, B., Pilarski, R., Gulewicz, K., Oszmiański, J., Michałowicz, J. & Koter-Michalak, M. 2011. Protective activity of the *Uncaria tomentosa* extracts on human erythrocytes in oxidative stress induced by 2, 4-dichlorophenol (2, 4-DCP) and catechol. *Food and Chemical Toxicology*,49, 2202-2211.

Bors, M., Sicińska, P., Michałowicz, J., Wieteska, P., Gulewicz, K. & Bukowska, B. 2012. Evaluation of the effect of *Uncaria tomentosa* extracts on the size and shape of human erythrocytes (in vitro). *Environmental toxicology and pharmacology*,33, 127-134.

Cabello, F.C. 2006. Heavy use of prophylactic antibiotics in aquaculture: a growing problem for human and animal health and for the environment. *Environmental microbiology*,8, 1137-1144.

Cala, D. L. 2013. toxicidad aguda del extracto acuoso de corteza de la planta uña de gato (*Uncaria tomentosa*) en la pulga de agua (*Daphnia magna*). Trabalho de Conclusão de Curso – Facultad de Medicina Veterinaria e Zootecnia, Universidad Cooperativa de Colombia, Bucaramanga.

Cacho, M., Yamamoto, M. & Chellappa, S. 2007. Mating system of the amazonian cichlid angel fish, *Pterophyllum scalare*. *Brazilian Journal of Biology*,67, 161-165.

Cacho, M.D.S.R., Chellappa, S. & Yamamoto, M.E. 2006. Reproductive success and female preference in the amazonian cichlid angel fish, *Pterophyllum scalare* (Lichtenstein, 1823). *Neotropical Ichthyology*,4, 87-91.

Cao, H., Ou, R., Li, G., Yang, X., Zheng, W. & Lu, L. 2014. *Saprolegnia australis* RF Elliott 1968 infection in Prussian carp *Carassius gibelio* (Bloch, 1782) eggs and its control with herb extracts. *Journal of Applied Ichthyology*,30, 145-150.

Chapman, F.A., Fitz-Coy, S.A., Thunberg, E.M. & Adams, C.M. 1997. United States of America trade in ornamental fish. *Journal of the World Aquaculture Society*,28, 1-10.

Christybapita, D., Divyagnaneswari, M. & Michael, R.D. 2007. Oral administration of *Eclipta alba* leaf aqueous extract enhances the non-specific immune responses and disease resistance of *Oreochromis mossambicus*. *Fish & shellfish*

immunology,23, 840-852.

Coe, C.D.M., Freitas, M.C.D. & Araújo, R.C.P.D. 2011.Diagnóstico da cadeia produtiva de peixes ornamentais no município de Fortaleza, Ceará.

Dias, M.G. & Salgueiro, L. 2009. Interações entre preparações à base de plantas medicinais e medicamentos. *Revista de Fitoterapia*, 9, 5 - 22.

Done, H.Y. & Halden, R.U. 2015. Reconnaissance of 47 antibiotics and associated microbial risks in seafood sold in the United States. *Journal of hazardous materials*,282, 10-17.

Dykman, M. 2012. The environmental and economic benefits of eco-certification within the ornamental fish trade.*Int J Trade Econ Financ*,3, 1-6.

FAO – Food Agriculture Organization of the United Nations. 2012. Fishery and Aquaculture Statistics 2012. 129. Disponível em: www.fao.org/3/a-i3740/index.html.

FAO - Food Agriculture Organization of the United Nations. 2014. The State of World Fisheries and Aquaculture 2012. Disponível em: www.fao.org/3/a-i3720e.pdf

Fridman, S., Sinai, T. & Zilberg, D. 2014.Efficacy of garlic based treatments against monogenean parasites infecting the guppy (*Poecilia reticulata* (Peters)). *Veterinary parasitology*,203, 51-58.

Fukayama, E.H., Bertechini, A.G., Geraldo, A., Kato, R.K. & Murgas, L.D.S. 2004.Extrato de orégano como aditivo em rações de frangos de corte. In. SciELO Brasil.

Furuya, W.M.F. 2010. Tabelas brasileiras para a nutrição de tilápias, GFM. 100.

Garcia, F., Kimpara, J., Valenti, W. & Ambrosio, L. 2014.Emergy assessment of tilapia cage farming in a hydroelectric reservoir.*Ecological Engineering*,68, 72-79.

Garcia, F., Romera, D.M., Gozi, K.S., Onaka, E.M., Fonseca, F.S., Schalch, S.H., Candeira, P.G., Guerra, L.O., Carmo, F.J. & Carneiro, D.J. 2013. Stocking density of Nile tilapia in cages placed in a hydroelectric reservoir. *Aquaculture*,410, 51-56.

Guo, J., Kuo, C., Hong, J., Chou, R., Lee, Y. & Chen, T. 2015.The effects of garlic-supplemented diets on antibacterial activities against *Photobacterium damsela*

subsp. *piscicida* and *Streptococcus iniae* and on growth in Cobia, *Rachycentron canadum*. *Aquaculture*, 435, 111-115.

Harikrishnan, R., Balasundaram, C., Kim, M.-C., Kim, J.-S., Han, Y.-J. & Heo, M.-S. 2009. Innate immune response and disease resistance in *Carassius auratus* by triherbal solvent extracts. *Fish & shellfish immunology*, 27, 508-515.

Heitzman, M.E., Neto, C.C., Winarz, E., Vaisberg, A.J. & Hammond, G.B. 2005. Ethnobotany, phytochemistry and pharmacology of *Uncaria* (Rubiaceae). *Phytochemistry*, 66, 5-29.

IBAMA - Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. 2008. Diagnóstico geral das práticas de controle ligadas a exploração, captura, comercialização, exportação e uso de peixes para fins ornamentais e de aquarofilia.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2014. Produção da pecuária municipal 2013. 41.

Ibrahim, K., Al-Ashban, R. & El-Sammani, S. 2009. A Study of the Toxicity of Cat's Claw Herbal Medicine. *Research Journal of Pharmacology*, 3, 52-57.

Jensen, F., Nielsen, M. & Nielsen, R. 2014. Increased competition for aquaculture from fisheries: Does improved fisheries management limit aquaculture growth? *Fisheries Research*, 159, 25-33.

Junk, W.J., Soares, M.G.M. & Bayley, P.B. 2007. Freshwater fishes of the Amazon River basin: their biodiversity, fisheries, and habitats. *Aquatic Ecosystem Health & Management*, 10, 153-173.

Keplinger, K., Laus, G., Wurm, M., Dierich, M.P. & Teppner, H. 1998. *Uncaria tomentosa* (Willd.) DC.—ethnomedicinal use and new pharmacological, toxicological and botanical results. *Journal of Ethnopharmacology*, 64, 23-34.

Korzelecka-Orkisz, A., Szalast, Z., Pawlos, D., Smaruj, I., Tański, A., Szulc, J. & Formicki, K. 2012. Early ontogenesis of the angelfish, *Pterophyllum scalare* Schultze, 1823 (Cichlidae). *Neotropical Ichthyology*, 10, 567-576.

Kulkarni, R., Pawar, P., Joseph, M., Akulwad, A., Sen, A. & Joshi, S. 2013. *Lavandula gibsoni* and *Plectranthus mollis* essential oils: chemical analysis and

insect control activities against *Aedes aegypti*, *Anopheles sttephensi* and *Culex quinquefasciatus*. *Journal of Pest Science*,86, 713-718.

Kumar, S., Raman, R., Pandey, P., Mohanty, S., Kumar, A. & Kumar, K. 2013.Effect of orally administered azadirachtin on non-specific immune parameters of goldfish *Carassius auratus* (Linn. 1758) and resistance against *Aeromonas hydrophila*.*Fish & shellfish immunology*,34, 564-573.

Ling, F., Wang, J.-G., Lu, C., Wang, G.-X., Lui, Y.-H.& Gong, X.-N. 2012. Effects of aqueous extract of *Capsicum frutescens* (Solanaceae) against the fish ectoparasite *Ichthyophthirius multifiliis*. *Parasitology research*,111, 841-848.

Lorenzi, H. & De Abreu Matos, F.J. 2002. Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas, Instituto Plantarum de Estudos da Flora.

Medina-Beltrán, V., Luna-González, A., Fierro-Coronado, J.A., Campa-Córdova, Á.I., Peraza-Gómez, V., Del Carmen Flores-Miranda, M. & Rivera, J.N.G. 2012. *Echinacea purpurea* and *Uncaria tomentosa* reduce the prevalence of WSSV in witheleg shrimp (*Litopenaeus vannamei*) cultured under laboratory conditions. *Aquaculture*,358, 164-169.

Moore, J.E., Huang, J., Yu, P., Ma, C., Moore, P.J., Millar, B.C., Goldsmith, C.E. & Xu, J. 2014.High diversity of bacterial pathogens and antibiotic resistance in salmonid fish farm pond water as determined by molecular identification employing 16S rDNA PCR, gene sequencing and total antibiotic susceptibility techniques. *Ecotoxicology and environmental safety*,108, 281-286.

Pavei, C., Kaiser, S., Verza, S. G., Borre, G. L., Ortega, G. G., 2012. HPLC-PDA method for quinovic acid glycosides assay in Cat's claw (*Uncaria tomentosa*) associated with UPLC/Q-TOF–MS analysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 62, 250-257.

Peraza-Gómez, V., Luna-González, A., González-Prieto, J.M., Fierro-Coronado, A. & González-Ocampo, H.A. 2014. Protective effect of microbial immunostimulants and antiviral plants against WSSV in *Litopenaeus vannamei* cultured under laboratory conditions.*Aquaculture*,420, 160-164.

Pérez, E., DíAz, F. & Espina, S. 2003. Thermoregulatory behavior and critical thermal limits of the angelfish *Pterophyllum scalare* (Lichtenstein)(Pisces:

Cichlidae). *Journal of Thermal Biology*, 28, 531-537.

Ribeiro, F.D.a.S., De Lima Preto, B. & Fernandes, J.B.K. 2009. Sistemas de criação para o acará-bandeira (*Pterophyllum scalare*)-DOI: 10.4025/actascianimsci. v30i4. 685. *Acta Scientiarum. Animal sciences*, 30, 459-466.

Ribeiro, F.D.a.S., Rodrigues, L.A. & Fernandes, J. 2007. Desempenho de juvenis de acará-bandeira (*Pterophyllum scalare*) com diferentes níveis de proteína bruta na dieta. *Boletim do Instituto de Pesca*, 33, 195-203.

Rojas-Duran, R., González-Aspajo, G., Ruiz-Martel, C., Bourdy, G., Doroteo-Ortega, V., Alban-Castillo, J., Robert, G., Auburger, P. & Deharo, E. 2012. Anti-inflammatory activity of Mitraphylline isolated from *Uncaria tomentosa* bark. *Journal of Ethnopharmacology*, 143, 801-804.

Sandoval, M., Okuhama, N., Zhang, X.-J., Condezo, L., Lao, J., Angeles, F., Musah, R., Bobrowski, P. & Miller, M. 2002. Anti-inflammatory and antioxidant activities of cat's claw (*Uncaria tomentosa* and *Uncaria guianensis*) are independent of their alkaloid content. *Phytomedicine*, 9, 325-337.

Schelkle, B., Snellgrove, D. & Cable, J. 2013. In vitro and in vivo efficacy of garlic compounds against *Gyrodactylus turnbulli* infecting the guppy (*Poecilia reticulata*). *Veterinary parasitology*, 198, 96-101.

Scorvo Filho, J.D., Frascá-Scorvo, C.M.D., Alves, J.M.C. & Souza, F.R.a.D. 2010. A tilapicultura e seus insumos, relações econômicas. *Revista Brasileira de Zootecnia*.

Seoane, M., Rioboo, C., Herrero, C. & Cid, Á. 2014. Toxicity induced by three antibiotics commonly used in aquaculture on the marine microalga *Tetraselmis suecica* (Kylin) Butch. *Marine environmental research*, 101, 1-7.

Suzuki, K., Misaka, N. & Sakai, D. 2006. Efficacy of green tea extract on removal of the ectoparasitic flagellate *Ichthyobodo necator* from chum salmon, *Oncorhynchus keta*, and masu salmon, *O. masou*. *Aquaculture*, 259, 17-27.

Takahashi, L., Silva, T., Fernandes, J., Biller, J. & Sandre, L. 2010. Efeito do tipo de alimento no desempenho produtivo de juvenis de acará-bandeira (*Pterophyllum scalare*). *Boletim do Instituto de Pesca*, 36, 1-8.

Telli, G.S., Ranzani-Paiva, M.J.T., De Carla Dias, D., Sussel, F.R., Ishikawa, C.M. & Tachibana, L. 2014. Dietary administration of *Bacillus subtilis* on hematology and non-specific immunity of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* raised at different stocking densities. *Fish & shellfish immunology*, 39, 305-311.

Thanikachalam, K., Kasi, M. & Rathinam, X. 2010. Effect of garlic peel on growth, hematological parameters and disease resistance against *Aeromonas hydrophila* in African catfish *Clarias gariepinus* (Bloch) fingerlings. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 3, 614-618.

Thlusty, M.F., Rhyne, A.L., Kaufman, L., Hutchins, M., Reid, G.M., Andrews, C., Boyle, P., Hemdal, J., Mcgilvray, F. & Dowd, S. 2013. Opportunities for public aquariums to increase the sustainability of the aquatic animal trade. *Zoo biology*, 32, 1-12.

Valladão, G., Gallani, S. & Pilarski, F. 2015. Phytotherapy as an alternative for treating fish disease. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*.

Whyte, S. 1975. Distribution, trophic relationships and breeding habits of the fish populations in a tropical lake basin (Lake Bosumtwi-Ghana). *Journal of Zoology*, 177, 25-56.

Yi, Y.-L., Lu, C., Hu, X.-G., Ling, F. & Wang, G.-X. 2012. Antiprotozoal activity of medicinal plants against *Ichthyophthirius multifiliis* in goldfish (*Carassius auratus*). *Parasitology research*, 111, 1771-1778.

Yunis Aguinaga, J., Claudiano, G.S., Marcusso, P.F., Ikefuti, C., Ortega, G.G., Eto, S.F., Da Cruz, C., Moraes, J.R., Moraes, F.R. & Fernandes, J.B. 2014. Acute Toxicity and Determination of the Active Constituents of Aqueous Extract of *Uncaria tomentosa* Bark in *Hyphessobrycon eques*. *Journal of toxicology*, 2014.

Zevallos-Pollito, P.A. & Tomazello Filho, M. 2010. Levantamento e caracterização" de duas espécies do gênero *uncaria* schreb.(rubiaceae) correntes no estado do acre, brasil. *Ecología Aplicada*, 9, 19-30.

Zhang, Q., Xu, D.-H. & Klesius, P.H. 2013. Evaluation of an antiparasitic compound extracted from *Galla chinensis* against fish parasite *Ichthyophthirius multifiliis*. *Veterinary parasitology*, 198, 45-53.

Zhao, J.-L., Liu, Y.-S., Liu, W.-R., Jiang, Y.-X., Su, H.-C., Zhang, Q.-Q., Chen, X.-

W., Yang, Y.-Y., Chen, J. & Liu, S.-S. 2015. Tissue-specific bioaccumulation of human and veterinary antibiotics in bile, plasma, liver and muscle tissues of wild fish from a highly urbanized region. *Environmental Pollution*, 198, 15-24.