

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

Câmpus de Botucatu

Efeitos da inclusão dietética da farinha de gengibre no desempenho produtivo, atividade das enzimas do sistema antioxidante, respostas hematológicas e imunológicas da tilápia-do-Nilo submetida à desafio bacteriano

RAFAEL FOGAÇA NALIATO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Zootecnia como parte dos requisitos para obtenção ao título de Mestre em Zootecnia

BOTUCATU – SP

2017

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

Câmpus de Botucatu

Efeitos da inclusão dietética da farinha de gengibre no desempenho produtivo, atividade das enzimas do sistema antioxidante, respostas hematológicas e imunológicas da tilápia-do-Nilo submetida à desafio bacteriano

RAFAEL FOGAÇA NALIATO

Zootecnista

ORIENTADORA: Prof.^a Dra. Margarida Maria Barros

CO-ORIENTADOR: Prof.^o Dr. Filipe Giardini Pereira Bonfim

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Zootecnia como parte dos requisitos para obtenção ao título de Mestre em zootecnia.

BOTUCATU – SP

2017

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO DA INFORMAÇÃO - SERVIÇO TÉCNICO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - UNESP - FCA - LAGEADO - BOTUCATU (SP)

N171e Naliato, Rafael Fogaça, 1990-
Efeitos da inclusão dietética da farinha de gengibre no desempenho produtivo, atividade das enzimas do sistema antioxidante, respostas hematológicas e imunológicas da Tilápia-do-Nilo submetida à desafio bacteriano / Rafael Fogaça Naliato. - Botucatu : [s.n.], 2017
66 f.: grafs., tabs.

Dissertação(Mestrado)- Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu, 2017

Orientador: Margarida Maria Barros

Coorientador: Filipe Giardini Pereira Bonfim

Inclui bibliografia

1. Tilápia(Peixe) - Alimentação e rações. 2. Tilápia (Peixe)- Desempenho. 3. Gengibre. 4. Infecções bacterianas - Resistência. I. Barros, Margarida Maria. II. Bonfim, Filipe Giardini Pereira. III. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (Campus de Botucatu). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. IV. Título.

Elaborada por Maria Lúcia Martins Frederico - CRB-8:5255

"Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte"

“ É muito melhor lançar-se em busca de conquistas grandiosas, mesmo expondo-se ao fracasso, do que alinhar-se com os pobres de espírito, que nem gozam muito nem sofrem muito, porque vivem numa penumbra cinzenta, onde não conhecem nem a vitória, nem a derrota (Theodore Roosevelt).”

DEDICATÓRIA

Aos meus pais,

Luciana Ap. Fogaça Baldi, Vilson José Naliato e Evando Carlos Furlanette;

Por serem meu exemplo de força, por toda a confiança depositada e pelo amor incondicional.

Aos meus irmãos,

Gabrieli Fogaça Naliato e Miguel Fogaça Furlanette;

Por serem os melhores presente que a vida poderia me dar, meu porto seguro e o maior orgulho da minha vida.

Aos meus avós,

Maura de Almeida Fogaça e Vilson Naliato;

Por todo Amor que não pode ser expresso em palavras, pelo exemplo de caráter e dignidade.

Muito Obrigado!

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus por cada desafio que enfrentei, me fazendo crescer e acreditar cada vez mais e pela grande oportunidade de realizar esse trabalho;

À toda minha família, pelo incentivo, apoio e amor, por serem o espelho da pessoa que eu sou hoje, com certeza esse título também pertence a vocês;

À minha orientadora, Profa. Dra. Margarida Maria Barros pela grande satisfação que me foi dada de poder ser orientado por uma grande profissional do meio da aquicultura, pela preocupação demonstrada durante todo esse período, toda paciência e incentivo para o crescimento;

Ao meu co-orientador, Prof. Dr. Filipe Giardini Pereira Bonfim, por toda contribuição para realização desse trabalho, paciência e pela disposição dada;

Ao Prof. Dr. Ricardo Orsi, por toda contribuição para realização desse trabalho, pela amizade e grandes contribuições para minha formação profissional e pessoal, pelo exemplo de profissional a ser seguido e pela facilidade, paz e alegria que traz ao ambiente de trabalho;

À professora Profa. Dra. Luciana Francisco Fleuri, pela contribuição na realização de análises;

À professora Profa. Dra. Fabiana Pilarski, pela contribuição na realização desse trabalho e grande receptividade;

Ao Prof. Dr. Luiz Edivaldo Pezzato, por toda contribuição para realização desse trabalho, pela amizade, pelos bons momentos vividos, exemplo de pessoa e profissional e toda ajuda e incentivo desde o começo da graduação;

À Profa. Dra. Maria Márcia Pereira Sartori, pela contribuição e ajuda nas análises estatísticas;

As alunas de Doutorado Jéssica, Débora, Silvia e Jordany por toda a ajuda, contribuição, grande paciência e empenho para contribuições neste trabalho;

Aos colegas do AquaNutri, Hinglidj de Carvalho Müller, Igor Simões, Pedro Pucci, Pedro Ventura, Matheus Gardim, Natália Brasil, Paulo Ito, William Xavier e Catarina Demarchi. Esse trabalho não teria sido concluído sem a ajuda de todos vocês;

Aos meus colegas de Laboratório Pedro Pucci e Igor Simões, primeiramente pela grande paciência, dedicação, pelo empenho na realização deste trabalho, por cada ensinamento que me fez crescer profissionalmente, sem vocês com certeza o resultado desse trabalho não seria o mesmo;

Aos meus amigos Alexandre Marques, Tamara Barbosa, Alessa Ribas, Guilherme Assuane, Natalia Marins Bastos, Mariana Gaioto, Acalian Nunes, Marina Piza, Bárbara Schweizer, Everton Lemos, Priscila Orsini, Michele Moura, André Roberto Franco Oliveira e Renan Diniz pela companhia nessa trajetória, pelos bons momentos, pela força e empenho nos momentos difíceis e pela grande saudade que carrego de todos me fazendo seguir em frente;

Ao IAC e Centro Flora pela contribuição em análises;

À CAPES e a CNPQ pela concessão da bolsa de estudos;

À Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – UNESP, Botucatu, pela minha formação;

Ao Programa de Pós-graduação em Zootecnia da FMVZ/UNESP, Botucatu, pela oportunidade da obtenção desse título de mestre.

SUMÁRIO

CAPÍTULO I

Resumo	1
1. Estresse em peixes	2
2. Aditivos na alimentação animal.....	4
3. Composição das plantas com potencial uso na aquicultura.....	4
3.1 Terpenos.....	7
3.2 Compostos fenólicos.....	10
4. Gengibre (<i>Zingiber officinale</i>)	11
4.1 Ação Anti-inflamatória.....	13
4.2 Ação Antioxidante	13
4.3 Ação imunoestimulante	13
5. Hematologia em peixes.....	14
6. Sistema imune em peixes.....	16
7. <i>Aeromonas hydrophila</i>	18
8. Referências.....	20

CAPITULO II

Abstract.....	27
1. Introduction.....	28
2. Material and Methods	29
2.1 Analysis and processing of Ginger	30
2.2 Experimental diet.....	31
2.3 Feeding trial (Phase I).....	31
2.4 Challenge with <i>Aeromonas hydrophila</i> (Phase 2)	33
2.5 Hematological assay (Phase I and II).....	34
2.6 Activity of the Immune system (Phase I and II)	34
2.7 Antioxidant enzyme activity (Phase I and II)	36
2.8 Statistical analysis.....	37
2.9 Ethics statement	38
3. Results.....	38
3.1 Phase I.....	38
3.2 Phase II.....	38
4. Discussion.....	40

5. References.....	44
CAPITULO III	
Implicações.....	66
FIGURAS	
Capitulo I	
Figura 1: Produção de metabolitos primários nos organismos vegetais.....	6
Figura 2: Unidade de isopreno.....	7
Figura 3: Metabolismo de terpenos.....	9
Figura 4: Alguns exemplos de terpenos.....	9
Figura 5: Conversão do gingerol em suas formas homólogas.....	12
Capitulo II	
Figure 1: Chromatographic profile of compounds present in ginger oil extracted of ginger powder.....	51
Figure 2: Effect of dietary ginger powder supplementation on Final body weight.....	52
Figure 3: Effect of dietary ginger powder supplementation on Specific growth rate.....	53
Figure 4: Effect of dietary ginger powder supplementation on Feed conversion rate.....	54
Figure 5: Effect of dietary ginger powder supplementation on mortality after the bacteria challenge.....	55
TABELAS	
Capitulo I	
Tabela 1: Terpenos.....	7
Tabela 2: Estrutura química dos compostos fenólicos.....	10
Capitulo II	
Table 1- Chemical composition (%) and classification of ginger powder.....	56
Table 2 - Formulation and chemical composition of the experimental diets.....	57
Table 3 – Initial weight (IW), Final body weight (FBW), specific growth rate (SGR), feed intake (FI), feed conversion rate (FCR), survival (SUR) of Nile tilapia fed diet supplemented with graded levels of ginger powder.....	58
Table 4 - Centesimal composition of body of Nile Tilapia.....	59

Table 5 – Hematological parameters of Nile tilapia fed for 30 days with diet supplemented with graded levels of ginger powder and submitted a bacterial challenge.....	60
Table 6 – Total plasma protein (TPP), albumin (Alb), globulin (Glob) and albumin: globulin ratio (A:G) of Nile tilapia fed diet supplemented with graded levels of ginger powder for 30 days and submitted a bacterial challenge.....	61
Table 7 - Mean values of nitrogen (NO) and oxygen (H ₂ O ₂) reactive intermediates produced by monocytes of Nile tilapia fed diet supplemented with graded levels of ginger powder for 30 days and submitted a bacterial challenge.....	62
Table 8 – Leukocyte, Lymphocytes (Lynf), neutrophil (Neutr) and monocytes (Mon) of Nile tilapia fed diet supplemented with graded levels of ginger powder for 30 days and submitted a bacterial challenge.....	63
Table 9 - Antioxidant enzyme activity of Nile tilapia fed diet supplemented with graded levels of ginger powder for 30 days and submitted a bacterial challenge.....	64

CAPÍTULO I
CONSIDERAÇÕES INICIAIS

Resumo

Os Peixes foram alimentados com dietas contendo níveis de pó de gengibre (GgP) para verificar seus efeitos sobre o desempenho produtivo e resistência à infecção bacteriana. Um grupo de 540 tilápias-do-Nilo ($8,2 \text{ g} \pm 0,34$) foi distribuído aleatoriamente em 36 aquários de 250 L (15 peixes / tanque) e alimentadas com seis dietas práticas, uma sem a adição de gengibre (0 GgP, dieta basal, controle positivo) e níveis crescentes de suplementação de 0,25% (0,25 GgP), 0,5% (0,5 GgP), 0,75% (0,75 GgP), 1% (1 GgP) e 1,5% da dieta GgP (1,5 GgP). Estas dietas foram formuladas para conter 29% de proteína digestível e 18 MJ de energia digestível kg^{-1} . Após 30 dias de alimentação, determinou-se o desempenho produtivo, os parâmetros hematológico e imunológico e a atividade das enzimas do sistema antioxidantes. Em seguida, os peixes foram submetidos a desafio com *Aeromonas hydrophila* e a mortalidade foi registrada por 15 dias. Os mesmos parâmetros e atividade de enzimas do sistema antioxidantes foram determinados após esse tempo. Peixes alimentados com dietas contendo níveis acima de 0,5 GgP apresentaram maior peso final e taxa de crescimento específica. Maior ingestão de ração foi determinada nos peixes alimentados com dietas contendo 1GgP e 1,5 GgP ($P < 0,05$). Quanto aos parâmetros hematológicos e imunológicos, antes ou após o desafio bacteriano, peixes alimentados com 0 GgP e 1,5 GgP apresentaram os piores resultados para todos os parâmetros. Os peixes alimentados com 1 GgP mostraram a maior produção de H_2O_2 e NO quando comparado com a dieta de controle ($P < 0,05$). Quanto as enzimas do sistema antioxidante, os peixes alimentados com 0,25 GgP e 1GgP foram capazes de manter as atividades de catalase e superóxido dismutase após a bactéria. Por outro lado, o peixe alimentado com 1,5 GgP mostrou os piores resultados. Após o desafio bacteriano, uma diminuição da mortalidade foi encontrada de acordo com a inclusão de gengibre. A maior taxa de sobrevivência foi determinada para peixes alimentados com 1 GgP, que foi 61.40% maior quando comparado ao controle. Com base nos resultados obtidos para taxa de sobrevivência e resposta imunológica, indicamos 1% de GgP para melhora da resistência à tilápia do Nilo contra a infecção por *Aeromonas hydrophila*.

Palavras Chaves: Compostos fitogênicos; desafio bacteriano; Imunoestimulante; *Oreochromis niloticus*; Zingibereno.

1. Estresse em peixes

Barton (2002) define o estresse como o conjunto de respostas não específicas do organismo frente à situações que possam ameaçar a homeostase, fato este que age como facilitador ao acometimento por doenças e mortandade na aquicultura. Para que o estresse ocorra nos animais é necessária a ação de agentes denominados estressores. Os agentes representam o conjunto de circunstâncias que levam o organismo à tentativa de adaptação para se manter hígido. (BARTON e IWAMA, 1991).

Como observado em diversos trabalhos, animais que passam por situações de estresse são levados a três fases distintas para que possa ocorrer a tentativa de adaptação. Esse conjunto de fases ganham a denominação de "SGA" - Síndrome Geral da Adaptação (BARTON e IWAMA, 1991; LIMA et al., 2006; GONÇALVES, et al., 2008).

A primeira fase dessa alteração observada no organismo é denominada de resposta primária ou de alarme, que geralmente independe do agente estressor; porém, suas consequências dependem da intensidade e duração da ação desse agente. A mesma é marcada pelas rápidas modificações neuroendócrinas frente à exposição aos agentes estressores de modo que os órgãos sensoriais captem os estímulos desfavoráveis para os animais e, a partir deles, cheguem ao hipotálamo (onde haverá a liberação de catecolaminas como a adrenalina e noradrenalina) e nas células cromafins, que nos peixes, causarão aumento no plasma dos níveis de tais substâncias liberadas. Também ocorre no hipotálamo a liberação de corticotropinas que quando atingem as células interrenais ocasionam a liberação do hormônio cortisol no sangue (CARNEIRO e URBINATI, 1999).

A liberação dessas catecolaminas e cortisol ocasionarão diversas alterações fisiológicas através de reações bioquímicas para tentar contornar tais circunstâncias estressoras. Entre estas, pode-se destacar a mobilização energética obtida pela hidrólise do glicogênio presente no fígado, gerando aumento dos níveis de glicose no sangue, diminuição das proteínas musculares e aumento dos batimentos cardíacos impulsionando o organismo à segunda fase de alterações metabólicas (BARTON e IWAMA, 1991; CARNEIRO et al., 2002).

Marcando a segunda fase de respostas (ou fase de resistência) além das alterações causadas pela primeira fase, podem ocorrer alterações na taxa respiratória, osmorregulação corporal, gerando a hemodiluição/hemoconcentração e alteração nos

valores de hematócrito e outros parâmetros sanguíneos (FAGUNDES, 2005). Tem-se encontrado grande dificuldade em analisar o exato momento em que os efeitos dos agentes estressores começam a afetar a higidez dos peixes; porém, quando se percebe efeitos aparentes sobre a regulação osmótica dos animais, provavelmente, a saúde do mesmo já se encontra comprometida transitando assim, para a terceira fase de alteração do organismo (MCDONALD e MILLIGAN, 1997).

A terceira etapa (ou fase de exaustão), descrita por Barton (1991) e Costa (1998) reconhecida pelo momento em que o fator estressante se torna crônico ao organismo, apresentando alterações em diversas funções como as do sistema imune, tornando o animal susceptíveis a invasão de agentes patogênicos normalmente encontrados no ambiente. Ocorrem também mudanças nas taxas de reprodução e crescimento demonstrando assim, que a capacidade adaptativa do organismo está no limite, podendo levar o animal a exaustão e morte.

Tais consequências oriundas das SAG são ocasionadas devido a série de respostas em cascata mencionadas anteriormente, deixando-os alerta frente à ação, principalmente do cortisol e catecolaminas, que têm nos peixes, como principais órgãos alvos, as brânquias, o intestino e o fígado gerando o suporte energético necessário para o organismo e tentando manter o balanço hidromineral. Porém, pode ocorrer depressão do sistema imunológico, que inibe o aumento da permeabilidade vascular e a migração de leucócitos para o foco da infecção (BAGLIOLI, 2008).

Como estratégia para impedir quedas não desejadas na resistência dos organismo, são criadas, entre outros, ações nutricionais que favorecem o mecanismo de defesa dos peixes, com o intuito de manter os animais saudáveis e torná-los mais responsivos aos impactos e alterações ambientais, ao ataque de agentes oportunistas e proporcionam maiores chances de sobrevivência (BARCELLOS, 2000; TORRECILLAS et al., 2007). Como os agentes estressores são inerentes aos sistemas de produção, o uso de dietas que favoreçam a saúde desses animais, por exemplo, estimulando o sistema imunológico, podem preparar melhor os animais para responderem contra essas adversidades. O uso de aditivos fitogênicos com ação imunoestimulante e antioxidante pode ser alternativa profilática, evitando o uso posterior de antimicrobianos (BARTON e IWAMA, 1991).

2. Aditivos na alimentação animal

Os antimicrobianos são usados na produção animal principalmente como promotores de crescimento, apresentando resultados satisfatórios. Contudo, atualmente estão sofrendo restrições e proibições de uso nas dietas. Razão pela qual produtos alternativos vêm sendo estudados, com o intuito de manter as vantagens da utilização dos antimicrobianos na alimentação animal, sem diminuir a produtividade, possibilitando o desenvolvimento mais saudável (PENZ et al., 1993).

Essa interação entre saúde e nutrição é imprescindível nos sistemas atuais de produção, não só na aquicultura, mas em toda a cadeia de produtos de origem animal. Desta forma, cresce a utilização de aditivos na nutrição animal visando o bem-estar vinculado ao máximo desempenho que o sistema possibilita. Dentre as principais características dos aditivos destacam-se o fato de não serem prejudiciais aos homens e animais, não deixarem resíduos nos produtos a serem consumidos e nem apresentar contaminantes ao ambiente (GONÇALVES et al., 2010).

Os aditivos mais estudados atualmente são os ácidos orgânicos, plantas e seus derivados, como óleos essenciais e extratos vegetais, enzimas, probióticos, prebióticos, entre outros. Entretanto, os dados obtidos nas pesquisas ainda são inconsistentes devido a variação de abordagens, metodologias, análises laboratoriais entre outros fatores (COSTA, 2009).

Nesse contexto, a utilização de plantas medicinais e seus componentes como aditivos fitogênicos chamam a atenção de pesquisadores, pois agem mantendo a saúde e auxiliando na prevenção de doenças. Como maior desafio dos fitogênicos oriundos de extratos vegetais e óleos essenciais, destaca-se a dificuldade de identificação e o estabelecimento dos compostos presentes em tais produtos e seus efeitos exercidos sobre o organismo animal (PEARCE e JIN, 2010).

3. Composição das plantas com potencial uso na aquicultura

De acordo com a definição dada pela Organização Mundial da Saúde (OMS) podem ser consideradas plantas medicinais, aquelas que possuam componentes ou características capazes de prevenir, aliviar, modificar ou curar uma ação fisiológica normal ou exacerbada causada por agentes patógenos ou não (SANTOS, 2011). Dentre

os produtos extraídos das plantas com tais propriedades pode-se destacar os óleos essenciais e extratos vegetais. Os extratos vegetais podem ser obtidos a partir de qualquer parte da planta moída ou desidratada com baixo custo operacional, enquanto que os óleos essenciais são obtidos também de diversas partes das plantas e de formas variadas como por fermentação, destilação, prensa, ações enzimáticas entre outras, o que onera a obtenção do produto (BURT, 2004).

As ações dos óleos essenciais e extratos vegetais dependem da concentração de compostos presentes nas plantas e esses princípios ativos são oriundos de dois tipos de metabolismo: O primário, existente em todo tipo de organismo vegetal e que para sua produção, há gasto energético. Geralmente, armazenados em grãos e sementes e que são fundamentais para o desenvolvimento, reações fisiológicas e metabolismo celular das plantas (BRAGA, 2008). Estes metabólitos primários, normalmente são provenientes de processos fotossintéticos e quando no ciclo de Krebs, são transformados em ácidos carboxílicos de baixo peso molecular e amplamente distribuídos em aminoácidos, carboidratos, gorduras, e ácidos nucléicos implicados nos processos vitais, tendo como exemplo a glicose, manose e frutose (Figura 1) (RAVEN, 2007). Estes metabólitos primários efetuam diversas funções no organismo e são classificados de acordo com suas principais capacidades e atuações, como por exemplo, servir de fonte de energia ou ser precursor para os compostos metabólicos secundários.

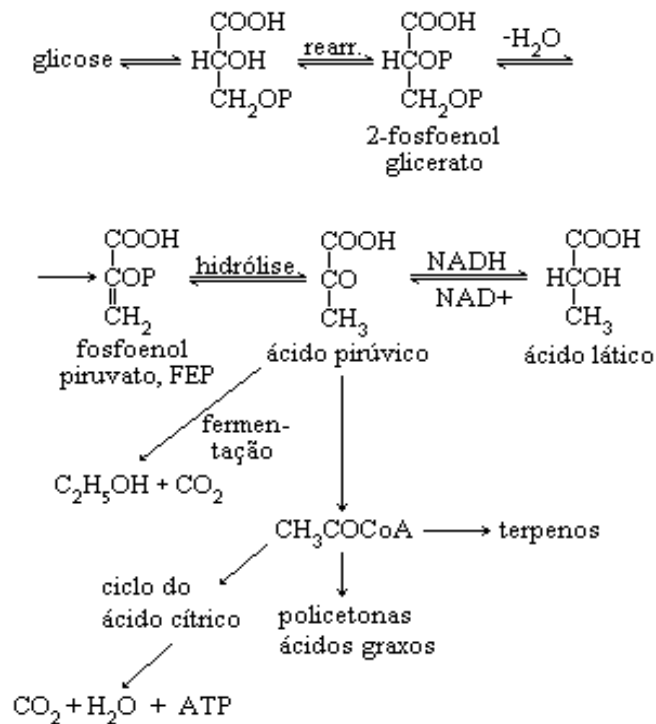


Figura 1: Produção de metabolitos primários nos organismos vegetais. (Adaptado de Raven, 2007).

Os metabolitos secundários são componentes não essenciais para a vida das plantas; porém, adicionam vantagens para as mesmas em relação à adaptação, resistência e sobrevivência variando de acordo com o tipo de componente secundário produzido o que, normalmente, se dá pela característica da família ou gênero. A utilização destes compostos vem crescendo nos últimos anos e há grande necessidade de compreender quais são as substâncias que conferem determinadas propriedades para os organismos vegetais estudados, e existem entre outras, algumas classes de compostos de grande importância para a utilização na nutrição: os terpenóides; os alcalóides e compostos nitrogenados; os compostos fenólicos e os flavonoides (RAVEN, 2007).

Compostos fenólicos são derivados do ácido chiquímico e ácido mevalônico. Os terpenos são produzidos a partir do ácido mevalônico (no citoplasma) ou do piruvato e 3-fosfoglicerato (no cloroplasto). Os alcaloides são provenientes de aminoácidos aromáticos (triptofano, tirosina), os quais são derivados do ácido chiquímico e de aminoácidos alifáticos (ornitina, lisina). Flavonoides, taninos e ligninas fazem parte dos compostos fenólicos; óleos essenciais, saponinas, carotenoides e a maioria dos

fitoreguladores são terpenos; nicotina, cafeína e vincristina são alguns exemplos de alcaloides (ALVES, 2001; PERES, 2004).

3.1 Terpenos

Dentre os metabólitos secundários encontrados nas plantas, os terpenos (terpenóides ou isoprenóides) são a classe mais abundante tendo sido descritos mais de 22.000. Terpenóides são classificados como terpenos modificados com rearranjo ou remoção de grupos metila ou adição de átomos de oxigênio oxidados (TAIZ e ZINGER, 2006). Sua possível definição como isoprenóide é obtida pois a classificação dos grupos de terpenos é em função ao número de unidades isopropênicas (Figura 2) em cada substância. Bohlmann et al. (1998) citam que há mais de 1.000 monoterpenos, mais de 3.000 diterpenos e mais de 7.000 sesquiterpenos. A Tabela 1 apresenta a quantidade de unidades de isopreno e número de átomos de carbono referente a cada família de terpenos.

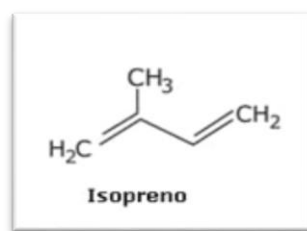


Figura 2: Unidade de isopreno

Tabela 1: Terpenos

Terpenos	Unidade de Isopreno	Átomo de carbono
Monoterpenos	2	10
Sesquiterpenos	3	15
Diterpenos	4	20
Sesterpenos	5	25
Triterpenos	6	30
Carotenóides	8	40
Borracha	>100	>500

Em geral os terpenos, como qualquer outro lipídio, são insolúveis na água e de fácil volatilização, podendo ser classificados como hidrocarbonetos, mas também podem

ser encontrados na forma de compostos oxigenados, álcoois aldeídos e cetonas. Estes compostos são sintetizados a partir do acetil CoA ou intermediários glicolíticos (Figura 3).

Uma única planta pode sintetizar vários tipos de terpenos em diferentes partes do organismo e em diferentes épocas do ano e, tais compostos podem efetuar diversas ações no metabolismo, como proteção contra predadores, atração de polinizadores, efeitos alelopáticos e proteção contra perda d'água e temperatura (NULTSCH, 2000; RAVEN et al., 2001). Os principais representantes dos terpenos encontrados nos óleos essenciais e extratos vegetais são os sesquiterpenos e monoterpenos, como o limoneno, zingibereno, curcumeno entre outros. Outros terpenos apresentam algumas funções no organismo vegetal na forma de resinas, ceras e borrachas. Destaca-se, ainda, que alguns compostos de importância para o organismo animal, como a vitamina K, vitamina E e vitamina A são obtidas do β -caroteno, também contém fragmentos terpênicos em suas moléculas (SIMÕES, 1999; NULTSCH, 2000) (Figura 4).

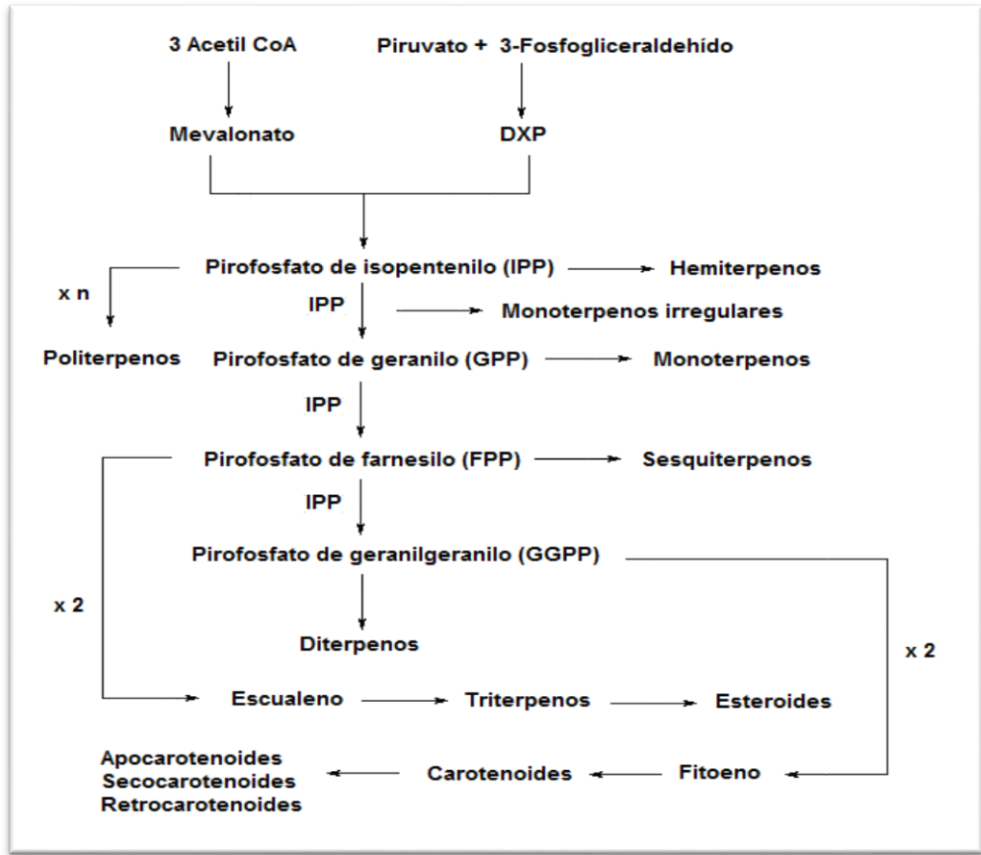


Figura 3: Metabolismo de terpenos. Adaptado de Bohlmann, 1998.

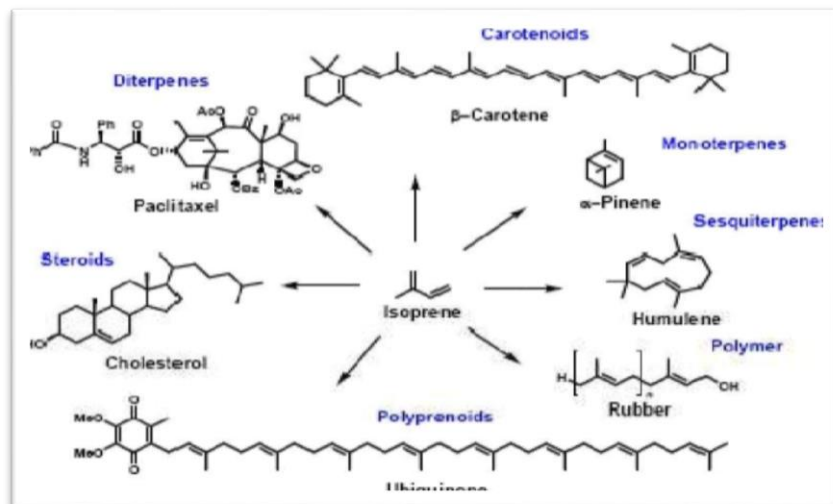


Figura 4: Alguns exemplos de terpenos

3.2 Compostos fenólicos

Entre os composto fenólicos encontram-se os fenóis de estrutura simples e os ácidos fenólicos. Considerando-se os aspectos químicos, tais compostos apresentam pelo menos um anel aromático e um ou mais grupos hidroxila em sua estrutura (KOSLOWSKA, 1983). Segundo Van Acker et al. (1996) os compostos fenólicos são moléculas oriundas de metabólitos secundários das plantas e podem ser subdivididos em dois grupos que são originados das mesma moléculas: os flavonoides (derivados do ácido acético e fenilalanina) e os não flavonoides (oriundos de ácidos como o hidroxibenzóico e hidroxicinâmico). A classificação dos grupos de compostos fenólicos pode ser observada na tabela 2 onde se nota a variedade de estruturas presentes nestes metabólitos secundários.

Tabela 2: Estrutura química dos compostos fenólicos

Classe	Estrutura
Fenólicos simples, benzoquinonas	C_6
Ácidos hidrozibenzóicos	C_6-C_1
Acetofenol, ácidos fenilacéticos	C_6-C_2
Ácidos hidroxicinâmicos, fenilpropanóides	C_6-C_3
Naftoquinonas	C_6-C_4
Xantonas	$C_6-C_1-C_6$
Estilbenos, antoquinonas	$C_6-C_2-C_6$
Flavonóides, isoflavonóides	$C_6-C_3-C_6$
Lignananas, neolignananas	$(C_6-C_3)_2$
Biflavonóides	$(C_6-C_3-C_6)_2$
Ligninas	$(C_6-C_3)_8$
Taninos condensados	$(C_6-C_3-C_6)_8$

Nas plantas os principais compostos fenólicos encontrados são os flavonoides, que consistem, principalmente, por catequinas, encontradas em frutas e folhas de chás, como o chá preto e verde; flavonas/isoflavonas, como a tangeritina, presente em frutas; flavonóis e seus glicosídeos, como a quercetina, mircetina e rutina presente em vários vegetais (HEIM, TAGLIAFERRO e BOBILYA, 2002).

Os compostos fenólicos apresentam como característica a grande capacidade antioxidante no organismo, bloqueando os radicais livres de reações em cadeia e também são capazes de combater os radicais hidroxilas e superóxido (ARNAO, 2000). Tais ações ocorrem pela formação de espécies de menor reatividade pela recepção de moléculas como a de oxigênio ou pela capacidade de doar hidrogênios destes compostos (HEIM, TAGLIAFERRO e BOBILYA, 2002). Essa reação é obtida pela capacidade reativa de cada molécula ao deslocamento de elétrons para sua estrutura aromática. Portanto, sua capacidade como agente antioxidante não varia apenas por sua polaridade mas sim, de acordo com sua estrutura química, como a natureza e posição de seus constituintes (HALLIWELL e GUTTERIDGE, 1990; NIKI, 2002). Natureza essa que atribui às plantas diversas características exclusivas como proteção da planta contra raios UV, proteção contra predadores (insetos e fungos), fornecem a adstringência de alguns alimentos, e até mesmo algumas propriedades antinutricionais quando encontradas em grandes quantidades (DESHPANDE, CHERYAN e SOLUNHKE, 1986).

4. Gengibre (*Zingiber officinale*)

O gengibre, principal representante alimentício pertencente à família *Zingiberaceae*, com aproximadamente 53 gêneros e 1200 espécies, consiste em planta herbácea com desenvolvimento perene, dividida morfológicamente em rizoma e parte aérea (DAHLGREN, 1985; CORRÊA JUNIOR, 1994). Definindo-se como a parte comercial da planta, o rizoma possui formação ramificada e crescimento no sentido horizontal no solo, formando estruturas similares a dedos, com consistência carnosa e pouco fibrosa, utilizada há tempos como condimento, na fabricação de bebidas e medicina popular, apresentando diversas características cientificamente comprovadas (SILVESTRINI, 1996; GONZAGA e RODRIGUES, 2001).

Tais aspectos medicinais são obtidos devido aos mais de 400 compostos químicos extraídos do rizoma, subdivididos, principalmente, entre voláteis (terpeno) e não voláteis (compostos fenólicos e alcaloides) (TJENDRAPUTRA, 2001). Os componentes voláteis do gengibre são responsáveis pelo sabor e aroma distintos desse rizoma, destacando-se o curcumeno, zingiberene, linalol e o 1,8-cineol (JOLAD, 2004; SANTOS, 2004; SHUKLA, 2007). Como mencionado por Jolad (2005), os compostos não voláteis em

destaque no gengibre são os gingeróis, paradóis e shagaóis, que possuem uma cetona aromática em comum e se diferenciam pelo tamanho da sua cadeia lateral.

Dentre as variedades de gingeróis, que além de alguns efeitos fármacos, também são responsáveis pela sensação de pungência deste rizoma, destacam-se o 4-gingerol, 6-gingerol, 8-gingerol, 10-gingerol e o 12-gingerol. Porém, a molécula mais abundante é o 6-gingerol (YONG e CHEN, 2002). Em altas temperaturas, os gingeróis sofrem reações de desidratação e transformam-se em shagaóis que, por sua vez, podem sofrer hidrogenação originando compostos denominados paradóis (FIGURA 5) (JOLAD et al., 2004; JOLAD et al., 2005).

No vegetal *in natura* são encontradas baixas concentrações de shagaóis e paradóis, porém, quando o gengibre é processado ou permanece armazenado por longos períodos, essas substâncias se acumulam, modificando a biodisponibilidade de nutrientes, atividades farmacológicas e concentração de substâncias desejáveis presentes no gengibre, como exemplo, o 6-gingerol (REINHARD et al., 2005).

Dentre as diversas funções já descritas na literatura sobre o potencial químico e farmacológico do gengibre, pode-se citar a ação antiemética, antiúlcera, anti-hipertensiva, antimicrobiana e analgésica. Entretanto, são as características anti-inflamatórias, antioxidantes e imunoestimulantes que merecem destaque na nutrição animal (KIUCHI et al., 1992; SHUKLA et al., 2007).

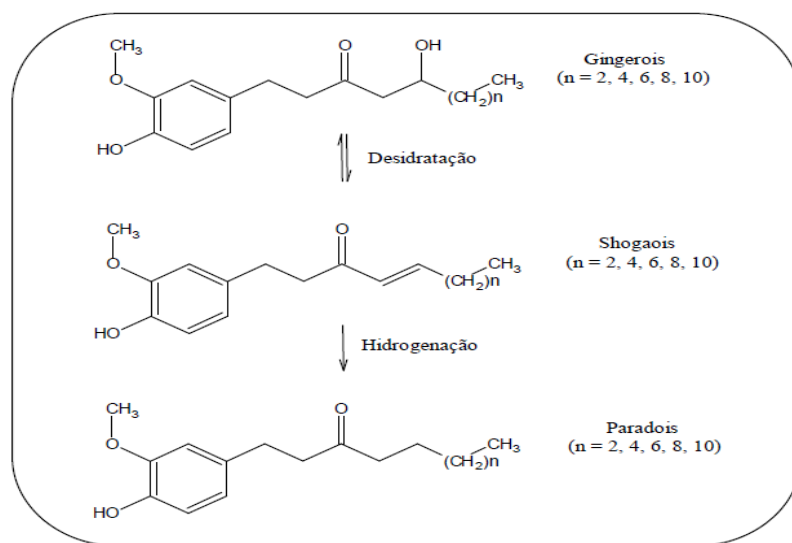


Figura 5: Conversão do gingerol em suas formas homólogas (Adaptado de Reinhard, 2005).

4.1 Ação Anti-inflamatória

A atividade anti-inflamatória do gengibre é obtida pela ação de alguns de seus componentes bioativos na síntese de eicosanoides, inibindo as vias da ciclooxigenase e da lipooxigenase, e a síntese de prostaglandina E₂ e leucotrieno B₄, considerados importantes mediadores químicos da inflamação, além da inibição do metabolismo do ácido araquidônico (KIUCHI et al., 1992). O gengibre e alguns de seus constituintes são efetivos na inibição das citocinas sintetizadas e secretadas nos sítios da inflamação (GRZANNA et al., 2005). Essas proteínas são secretadas por linfócitos, macrófagos, fibroblastos e outras células e atuam como mensageiros químicos entre as células envolvidas nas respostas imune e inflamatória. As propriedades anti-inflamatórias dos extratos naturais são interessantes, uma vez que apresentam menores efeitos colaterais e semelhante efetividade se comparadas às drogas sintéticas normalmente utilizadas (CHARLIER e MICHAUX, 2003; MARTEL-PELLETIER et al., 2003).

4.2 Ação Antioxidante

Além das ações anti-inflamatórias o gengibre possui destacada ação antioxidante (KIM et al., 2007), atribuída aos compostos polifenólicos presentes no rizoma da planta e em seus constituintes (CHEN et al., 1986). Esses compostos polifenólicos interrompem a cadeia da reação por meio da doação de elétrons ou hidrogênio aos radicais livres, convertendo-os em produtos termodinamicamente estáveis e/ou reagindo com os radicais livres, formando o complexo lipídio-antioxidante que pode reagir com outro radical livre sendo, dessa forma, eficientes na prevenção da auto oxidação (SHAHIDI et al., 1992; ADEGOKE et al., 1998).

4.3 Ação imunoestimulante

Compostos fitogênicos agem como imunoestimulante nos animais de acordo com a sua forma de administração, dosagem, período de utilização, a espécie produzida e o tipo de patógeno presente (SAKAI, 1999). O aumento da atividade dos macrófagos, fagocitose por neutrófilos e monócitos, maior produção de linfócitos, imunoglobulinas e

atividade de lisozimas são as principais respostas observadas (RAA, 1996; SAKAI, 1999).

Nya e Austin (2009) trabalhando com a truta-arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*), utilizaram o gengibre no controle da infecção experimental por *Aeromonas hydrophila*. O gengibre foi adicionado à dieta em quantidades de 0,05; 0,1; 0,5 e 1g por kg de dieta. No nível de 0,5 kg⁻¹ de dieta a mortalidade foi reduzida a zero, houve aumento na taxa de crescimento e melhoria da eficiência proteica e conversão alimentar. Houve, também aumento no número de neutrófilos, macrófagos e linfócitos, com aumento da atividade fagocítica e concentração de lisozima.

5. Hematologia em peixes

A avaliação hematológica é utilizada como indicador da saúde dos peixes. Tais aspectos são utilizados para a verificação do estado fisiológico destes animais e facilita a padronização de condições para produção. A hematologia estuda as alterações dos padrões e dos distúrbios morfológicos das células do sangue. Tais alterações podem ser divididas em dois tipos de análises, o eritograma, que é utilizado principalmente para a verificação de processos de anemia, e o leucograma que diagnostica processos infecciosos e outros estados de perda da homeostase (ARAUJO et al., .2009).

O sangue, tecido conectivo fluido, apresenta três principais frações: o plasma que é composto por mais de 90% de água, proteínas como a glubulina e a albumina e metabólitos como enzimas e hormônios. A fração vermelha, que corresponde aos eritrócitos, células responsáveis pelo transporte do oxigênio e gás carbônico, que correspondem ao eritograma nas análises e os leucócitos, porção de glóbulos brancos, responsáveis pela defesa do organismo e analisados por meio do leucograma (TAVARES-DIAS e MORAES, 2004; RANZANI-PAIVA, 2007).

As células vermelhas do sangue transportam oxigênio e gás carbônico por meio da hemoglobina (HRUBEC e SMITH, 2010; TAVARES-DIAS e MORAES, 2004). O hematócrito, a concentração de hemoglobina e a contagem total do número eritrócitos podem ser indicadores da capacidade de transporte de oxigênio dos peixes.

O hematócrito pode ser alterado decorrente de outras causas, como é o caso do aumento da atividade eritropoietica do baço e do rim oriunda do estresse, enquanto que a deficiência de nutrientes deprime a produção de eritrócitos, trombócitos e leucócitos. De

acordo com Tavares-Dias e Moraes (2004), a alteração do hematócrito mediante o estresse ocasiona hemoconcentração ou hemodiluição. A hemoconcentração pode ocorrer pela liberação de eritrócitos pelo baço; na hemodiluição ocorre a redução nos valores do hematócrito. O volume corpuscular médio e a hemoglobina corpuscular média podem ser calculados derivados dos índices primários (eritrócitos, hemoglobina e hematócrito) (MATOS e MATOS 1995; TAVARES-DIAS e MORAES 2004).

Os leucócitos utilizam as vias sanguíneas para migrar até o foco inflamatório e realizam o monitoramento das infecções no organismo. Integram diversas linhagens de células diferenciadas morfológicamente pela presença ou ausência de grânulos, com funções variadas no organismo e são diferenciados em linfócitos, neutrófilos, monócitos, eosinófilos, basófilos e trombócitos (SATAKE et. al., 2009).

Os linfócitos T e B são tipos de leucócito presentes no sangue e tecidos e possuem um importante papel na defesa do corpo reconhecendo moléculas de organismos e/ou partículas estranhas em agentes infecciosos e combatem-nas através da resposta citotóxica mediada por células ou por resposta humoral produzindo imunoglobulinas (anticorpos). Morfológicamente, são células de formato esférico com diâmetro variável entre 6 e 10 μ m e possuem um grande núcleo esférico central com heterocromatina disposta na forma de grumos grosseiros fazendo com que o núcleo seja corado de maneira intensa, facilitando sua identificação. Os linfócitos podem ser classificados em três grupos diferentes de acordo com as moléculas encontradas em sua superfície celular: linfócitos B, linfócitos T e Linfócitos NK (natural killer), e seu tempo de vida de é variável podendo variar de poucos dias até anos (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2013). Enquanto os outros tipos de leucócitos migram somente na direção sangue-tecido, os linfócitos circulam livremente do sangue para os tecidos e vice-versa. São produzidos na medula óssea e defendem o organismo contra doenças, infecções ou alergias e quando seu número se encontra aumentado no sangue, servem como indicativo para alterações no organismo (TAVARES-DIAS e MORAES, 2004).

Os neutrófilos apresentam grande quantidade de peroxidase, enzima lisossômica presente em células fagocíticas e que promovem a oxidação de certos compostos pelo peróxido de hidrogênio no processo de fagocitose, podendo aderir às células endoteliais e transmigrar para o foco inflamatório atraído por quimiotaxinas (TAVARES-DIAS e MORAES, 2004). Os monócitos estão presentes tanto em peixes ósseos quanto

cartilagenosos, são células em trânsito no organismo e atuam na reação inflamatória e respostas imunológicas realizando a fagocitose contra os patógenos, apresentando habilidade citotóxica não-específica o que gera aumento nessa atividade fagocítica de antígenos bacterianos, induzida pela liberação de fatores ativadores de macrófagos por meio da inoculação dos patógenos mortos ou de seus produtos (TRALL e et al., 2007).

Considerando a importância dos leucócitos na saúde dos animais, a diferenciação e contagem total dos mesmos vem sendo incluída como análise pertencente ao perfil hematológico. O qual pode refletir a saúde dos animais e facilitar a compreensão da situação atual de seu sistema imunológico.

6. Sistema imune em peixes

Assim como os vertebrados superiores da escala evolutiva, os peixes apresentam mecanismo de defesa contra agentes patógenos por duas distintas vias: o mecanismo de defesa específico (adaptativa) e o não específico (inata). A primeira linha de defesa atuante é o sistema não específico que corresponde as escamas, muco e pele que agem como barreira impedindo a invasão de qualquer agente, independentemente de sua classificação, no organismo animal. O muco produzido e secretado pelos peixes apresenta ação imune, contém moléculas capazes de lizar a parede celular dos agentes patogênicos, com destaque para a lisozima, lectinas e proteases (OURTH, 1980). Após essa tentativa do organismo de impedir qualquer invasão, se ainda assim o patógeno conseguir ultrapassar essa barreira primária de defesa, as defesas não específicas humorais e celulares são acionadas, tendo como células mais importantes envolvidas os fagócitos (YANO, 1996; DALMO et al., 1997).

Os primeiros vertebrados a desenvolverem um sistema imunológico adaptativo e inato foram os peixes que, por sua vez, não têm sua medula óssea como órgão imunológico principal porém, possuem células hematopoiéticas no rim cefálico que produzem células de defesa tanto de origem mieloide como as linfoides (VAN MUISWINKEL, 1995). Também não são encontrados linfonodos nos peixes assim como encontramos em outros vertebrados, agindo na forma de órgão de produção imunológica secundária. Tais características nos peixes são dadas ao baço e a parte cefálica do rim, os quais atuam na resposta imunológica como na interação com o antígeno e produção de anticorpos.

O início das defesas humorais e celulares são dadas devido a sinalização de invasão do organismo por patógenos, que é realizada pela produção de algumas substâncias (como a histamina) pelos mastócitos e basófilos que provocam a dilatação dos vasos sanguíneos, aumentam a permeabilidade dos vasos e o fluxo de sangue no local, ocasionando entre outros sinais clínicos o inchaço (aumento do calibre dos vasos sanguíneos locais), calor (aumento da taxa metabólica) e a dor (pressionamento das terminações nervosas locais) característicos da inflamação (OURTH, 1980).

A histamina e outras substâncias ao entrarem na circulação sanguínea vão atrair os fagócitos para o local da inflamação, que conseguem atravessar as paredes dos capilares modificando a sua forma por diapedese. Os primeiros fagócitos (células que realizam a fagocitose) a chegar são os neutrófilos seguidos dos macrófagos (SCHLUTER et. al., 1999)

O processo de fagocitose é potencializado com a ligação das opsoninas (moléculas que agem como facilitadora de ligações, revestindo os agentes patógenos e aumentando a capacidade de englobamento pelos fagócitos) e/ou moléculas da superfície do agente patogênico ao receptor da superfície celular dos fagócitos. Isto provoca o agrupamento do receptor, desencadeando a fagocitose com o fagócito expandido sua membrana celular em volta do patógeno, envolvendo o agente que será fagocitado, criando o fagossoma (ZAPATA et al, 1996).

Este processo de fagocitose ocasiona aumento no consumo de glicose e oxigênio, o que é nominado como *burst* respiratório. A consequência da queima respiratória é a produção de peróxido de oxigênio, que combate a bactéria fagocitada. Esta é a chamada morte intracelular dependente de oxigênio. Além disso, a bactéria pode ser destruída por substâncias previamente produzidas e liberadas dos grânulos ou lisossomas quando estes unem-se com o fagossoma. Esta é a chamada morte intracelular independente de oxigênio (MOYNER e ROED, 1993).

A ligação de bactéria à macrófagos resulta na produção de TNF- α , que age de maneira autócrina para induzir a expressão do gene da óxido nítrico sintetase, resultando na produção de óxido nítrico (NO) que também combate os agentes patógenos. Se a célula é também exposta ao interferon gama é produzido óxido nítrico adicional que quando liberado pela célula age de forma tóxica e pode matar microrganismos ao redor do macrófago (MOYNER e ROED, 1993). Esta produção de compostos reativos ao oxigênio

e nitrogênio pode ser mensurada como resposta do organismo frente à invasão do agente patógeno o que, conseqüentemente, afeta diretamente no estado de higidez desse animal.

7. *Aeromonas hydrophila*

O conhecimento das doenças em peixes é importante, principalmente por limitar o desenvolvimento de sistemas aquícolas sendo que, as bactérias, dentre os vários patógenos, provavelmente constituem o grupo de agentes etiológicos que causam maiores prejuízos na aquicultura mundial (FRERICHS e MILLAR, 1993). Isto ocorre porque os peixes são suscetíveis às infecções bacterianas comumente presentes no ambiente aquático causando exposição direta e constante desses animais à esses agentes patógenos (COSTA, 1998). O gênero *Aeromonas* inclui bastonetes gram-negativos, medindo 0,3-1,0 µm de diâmetro x 1,5-3,5 µm de comprimento, sua ocorrência é isolada, em pares ou em pequenas cadeias e sua ação é obtida por meio da produção de proteínas extracelulares, incluindo amilase, quitinase, elastase, aerolisina, nuclease, gelatinase, lecitinase, lipase e protease que respondem ao fatores de virulência que podem ocasionar doenças em peixes (NAM e JOH, 2007).

Tais organismos pertencentes a este gênero, podem ser divididas em dois grupos, baseando-se em características como motilidade e temperatura de multiplicação. Como primeiro grupo temos as espécies que podem apresentar patogenicidade aos peixes e outros animais, incluindo o homem. São encontrados neste grupo: *A. hydrophila*, *A. caviae*, *A. sobria*, entre outras. Dadas como bactérias mesófilas, heterogênicas e móveis, com faixa ideal de temperatura para sua multiplicação entre 5°C a 45°C, sendo a ótima de 28°C. Bactérias como *A. salmonicida* e *A. media* são incluídas no segundo grupo, caracterizado imóveis e psicrófilas com difícil multiplicação acima e 37°C ou abaixo de 22°C (POPOFF, 1984; RODRIGUES e RIBEIRO, 2004).

A *Aeromonas hydrophila* infecta peixes de água doce, principalmente nos períodos mais quentes. Esses organismos são oportunistas facultativos, atacando peixes predispostos à infecções, sob condições desfavoráveis de produção, incluindo nutrição inadequada, condições ambientais adversas, condições de estresse como aumento de densidade, captura/transporte e desova (BULLOCK et al., 1971).

Quando instalada a infecção, as bactérias se proliferam rapidamente no organismo e inicia-se a formação de produtos extracelulares (ECP'S), toxinas e enterotoxinas, fator

citotóxico, lecitinas, proteases entre outros, que causam danos muitas vezes irreparáveis, podendo levar o animal a morte (MITTAL et al., 1980).

As ações da *Aeromonas hydrophila* foram divididas em quatro categorias variando de acordo com a resposta e sinais apresentados nos animais (SNIEZKO e AXELROD, 1971):

- 1) Aguda: Septicemia rápida e fatal, com pouco tempo e poucos sinais clínicos;
- 2) Aguda com ascite: São observadas protrusões de escamas;
- 3) Forma Ulcerativa crônica: Presença de furúnculos e abscessos;
- 4) Forma latente: Não há presença de sinais clínicos;

Os sinais clínicos da doença são: perda de apetite, apatia, perda de equilíbrio, hemorragias corporais, lesões epidérmicas como despigmentação, necroses da pele, úlceras com exposição da musculatura e alterações no comportamento. Alguns desses sinais são bastante característicos de infecções por bactérias gram-negativas, devido à produção de várias exotoxinas ou produtos extracelulares com atividade enzimática, como a lipase, várias proteases e fator dermonecrótico (AUSTIN e AUSTIN, 1993). Tais sinais clínicos podem levar o animal a morte e estudos para avaliar e desenvolver estratégias para combater os efeitos de agentes patógenos como a *Aeromonas hydrophila* se fazem necessário em vista da intensificação que ocorre na piscicultura e inúmeras situações de estresse à que esses animais são submetidos.

Com base nas informações apresentadas foi redigido o Capítulo II, com o objetivo de verificar as ações da inclusão dietética do gengibre em pó na ração para tilápia-do-Nilo, capítulo intitulado: Ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) powder improves growth performance and immune response, but limits antioxidant capacity of Nile tilapia infected with *Aeromonas hydrophila*, o qual foi redigido de acordo com as normas do periódico Aquaculture (fator de impacto 2.570).

8. Referências

ADEGOKE, G.O.; VIJAY, K.M.; GOPALA K.A.G.; VARADARAJ, M.C.; SAMBIAIAH, K.; LOKESH, B.R. Antioxidants and lipid oxidation in food – a critical appraisal. *J Food Sci Technol*, v.35, n.4, p.283-398, 1998.

ALVES, H. M. A diversidade química das plantas como fonte de fitofármacos. *Cadernos Temáticos de Química Nova na Escola*, v. 3, p. 10-15, 2001.

ARAUJO, C.S.O.; TAVARES-DIAS, M.; GOMES, A.L.S.; ANDRADE, S.M.S.; LEMOS, J.R.G.; OLIVEIRA, A.T.; CRUZ, V.R; AFFONSO, E.G. Infecções parasitárias e parâmetros sanguíneos em *Arapaima gigas* Schinz, 1822 (Arapaimidae) cultivados no estado do Amazonas, Brasil. In: Tavares-Dias, M. (Org.). *Manejo e Sanidade de Peixes em Cultivo*. 1 ed. Macapá, AP: Embrapa Amapá, v. 1, p. 389-424, 2009.

ARNAO, M.B. Some methodological problems in the determination of antioxidant activity using chromogen radicals: a practical case. *Trends in Food Science and Technology*, v. 11, p. 419 – 421, 2000

AUSTIN, B.; AUSTIN, D.A. *Bacterial Fish Pathogens: Disease in Farmed and Wild Fish*, Second Edition. New York: Ellis Horwood. 1993

BAGLIOLI, B. Vitamina C na dieta e influência nas respostas de estresse e resistência de juvenis de jundiás expostos ao ictio. 2008. 48 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2008.

BARCELLOS, L. J. G., SOUZA, S. M. G., WOEHL, V. M. Estresse em peixes: fisiologia da resposta ao estresse, causa e consequências (revisão). *Boletim do Instituto de Pesca*, São Paulo, v. 26, n. 1, p. 99-111, 2000.

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

BARTON, B.A. Stress in fishes: A diversity of responses with particular reference to changes in circulating corticosteroids. *Integrative and Comparative Biology*, v. 42, p.515, 2002.

BOHLMANN, J., Meyer-Gauen, G. and Croteau, R., “Plant terpenoid synthases: Molecular biology and phylogenetic analysis” *Proceedings of National Academy of Sciences of the United States of America* 95, p. 4126-4133, 1998.

BRAGA, T. V. Avaliação da atividade farmacológica de *Cissus verticillata* Nicolson & C. E. Jarvis subsp *verticillata* Como antioxidante, antifúngico, hipoglicemiante e cicatrizante. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Ouro Preto, 2008.

BULLOCK, G.L.; CONROY, D.A.; SNIESZKO, S.F. Bacterial diseases of fishes. In: S.F. SNIESZKO e H.R. AXELROD (Eds.), Diseases of Fishes, book 2A (pp. 1-151). Neptune City, NJ: TFH Publications. 1971.

BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *International Journal of Food Microbiology*, Amsterdam, v. 94, n. 3, p.223–253, 2004.

CARNEIRO, P. C. F.; URBINATI, E. C. “Stress” e crescimento de peixes em piscicultura intensiva. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE MANEJO E NUTRIÇÃO DE PEIXES, Campinas. Anais... Campinas: CBNA, p. 25-40, 1999.

CARNEIRO, P. C.; URBINATI, E. C.; MARTINS, M. L. Transport with different benzocaine concentrations and its consequences on hematological parameters and gill parasite population of matrinxã *Brycon cephalus* (Osteichthyes, Characidae). *Acta Scientiarum*, Maringá, v. 24, n. 2, p. 555-560, 2002.

CHARLIER, C.; MICHAUX, C. Dual inhibition of cyclooxygenase-2 (COX-2) and 5-lipoxygenase (5-LOX) as a new strategy to provide safer non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Eur. J. Med. Chem.* v.38, p.645–659, 2003.

CHEN, C.; KUO, M.; WU, C.; HO, C. Pungent compounds of ginger (*Zingiber officinale* (L) Rosc) extracted by liquid carbon dioxide. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 34, p. 477–480, 1986.

CORRÊA JUNIOR, C.; MING, L. C.; SCHEFFER, M. C. Cultivo de plantas medicinais, condimentares e aromáticas. 2. ed. Jaboticabal: FUNEP, 151p. 1994.

COSTA, A.B. Ictiopatologia e manejo sanitário em piscicultura intensiva. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO E NUTRIÇÃO DE PEIXES, 2, Campinas, 1998

COSTA B.L; Aditivos fitogênicos e butirato de sódio como potenciais promotores de crescimento de leitões recém-nascidos. (Doutorado em Agronomia) –Universidade de São Paulo – Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, p. 96 , 2009.

DAHLGREN, R. M. T.; CLIFFORD, H. T.; YEO, P. F. The Families of the Monocotyledons. New York: Springer, p. 360-364, 1985.

DALMO, R.A.; INGEBRIGTSEN, K.; BOGWALD, J. Non-specific defense mechanisms in fish, with particular reference to the reticuloendothelial system (RES). *Journal of Fish Diseases*, v.20, p.241–273, 1997.

DESHPANDE, S. S.; CHERYAN, M.; SALUNKHE, D.K. Tannin analysis of food products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, v. 24 (4), p. 401 – 449, 1986.

FAGUNDES, M. Respostas fisiológicas do pintado (*Pseudoplatystoma corruscans*) a estressores comuns na piscicultura. 2005. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2005.

FRERICHS, G.N.; MILLAR, S.D. Manual for the isolation and identification of fish bacterial pathogens. Stirling: Pisces Press, p. 60, 1993.

GRZANNA, R., LINDMARK, L., FRONDOZA, C.G. Ginger – an herbal medicinal product with broad anti-inflammatory actions. *J. Med. Food.*, v.8, p.125–132, 2005.

GONÇALVES, A. F. et al. Mentol e eugenol como substitutos da benzocaína na indução anestésica de juvenis de pacu. *Acta Scientiarum Animal Science*, Maringá, v. 30, n. 3, p. 339-344, 2008.

GONÇALVES F.M, CORRÊA M.N, ANCIUTI M.A, GENTILINI F.P, ZANUSSO J.T, RUTZ F.; Nutrigenômica: situação e perspectivas na alimentação animal. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias*, 104, p. 569-572, (2010).

GONZAGA, D. S. O. M.; RODRIGUES, V. G. Gengibre – *Zingiber officinale* Roscoe. [S.l.]: EMBRAPA, (Série Plantas Medicinais, Folder 12) 2001.

HALLIWELL, B. How to characterize a biological antioxidant. *Free Radical research Communications*, v. 9 (1), p. 1-32, 1990.

HEIM, K. E.; TAGLIAFERRO, A.R.; BOBILYA, D. J. Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *Journal of Nutritional Biochemistry*, v. 13, p. 572 – 584, 2002.

JOLAD, S.D; LANTZ, R.C; SOLYM, A.M; et al. Fresh organically grown ginger (*Zingiber officinale*): Composition and effects on LPS-induced PGE (2) production. *Phytochemistry*, 65: 1937-1954, 2004.

JOLAD, S.D; LANTZ, R.C; CHEN, G.J; et al. commercially processed dry ginger (*Zingiber officinale*): Composition and effects on LPS-istimulated PGE2 production. *Phytochemistry*, 66: p. 1614-1635, 2005.

JUNQUEIRA, L.C. e CARNEIRO, J. *Histologia básica I* - [12. ed]. - Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2013.

KIM, J.K.; KIM, Y.; NA, K.M.; SURH, Y.J.; KIM, T.Y. [6]-Gingerol prevents UVB-induced ROS production and COX-2 expression in vitro and in vivo. *Free Radic. Res.*, v.41, p.603–614, 2007

KIUCHI, F; IWAKAMI, S; SHIBUYA, M; et al. Inhibition of prostaglandin and leukotriene, biosynthesis by gingerols and diaryheptanoids. *Chemical and Pharmaceutical bulletin*, 40, p. 387-391, 1992.

KOZŁOWSKA, H.; ROTKIEWICZ, D.A.; ZADERNOWSKI, R.; SOSULSKI, F.W. Phenolic acids in rapeseed and mustard. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, v. 60, p. 1119 – 1123, 1983.

HRUBEC, T.C., SMITH, S.A., Hematology of fishes, in: Weiss, D.J., Wardrop, K.J. (Eds.), Schalm's veterinary hematology, sixth ed. Blackwell Publishing, p. 994-1003. 2010.

LIMA, C. L. et al. Estresse em peixes. Revista Brasileira de Reprodução Animal, Belo Horizonte, v. 30, n. 3, p. 113-117, 2006.

MARTEL-PELLETIER, J.; LAJEUNESSE, D.; REBOUL, P.; PELLETIER, J.P. Therapeutic role of dual inhibitors of 5-LOX and COX, selective and non-selective non-steroidal anti-inflammatory drugs. Ann. Rheum. Dis. v.62, p.501-509, 2003.

MATOS, M. S.; MATOS, P. F. DE. Laboratório Clínico Médico-Veterinário. Editora Atheneu. 2ª Ed. SP/RJ/BH. p. 238.1995

McDONALD, G.; MILLIGAN, L. Ionic, osmotic and acid-base regulation in stress. In: IWAMA, G.W.; et al., (Eds): Fish stress and health in aquaculture. Cambridge: University Press, p. 119-144. 1997.

MITTAL, K. R.; LALONDE, G.; LEBLANC, D.; OLIVIER, G.; LALLIER, R. Aeromonas hydrophila in rainbow trout: relation between virulence and surface characteristics. Canadian Journal of Microbiology, v. 26, p.1501-1503, 1980.

MOYNER, K.; ROED, K.H. Changes in non-specific immune parameters in Atlantic salmon, *Salmo salar* L. induced by *Aeromonas salmonicida* infection. Fish Shellfish Immunology, v. 3, p.253-265, 1993.

NAM, I.Y.; JOH, K. Rapid detection of virulence of *Aeromonas* isolated from a trout by hexaplex-PCR. Journal of Microbiology, v.45, n.4, p.297-304, 2007.

NIKI, E. Antioxidant activity: are we measuring it correctly? Nutrition, v. 18 (6), p. 524-525, 2002.

NULTSCH, W. Botânica geral. 10. ed. Artmed: Porto Alegre-RS, 2000.

NYA, E. J.; AUSTIN, B. Use of dietary ginger, *Zingiber officinale* Roscoe, as an immunostimulant to control *Aeromonas hydrophila* infections in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). Journal of Fish Diseases, v.32, p.971-977, 2009.

OURTH, D.D. Secretory IgM, lysozyme and lymphocytes in the skin and mucus of channel catfish, *Ictalurus punctatus*. Dev. Comp. Immunol., v.4, p.65-74, 1980.

PEARCE W.E; JIN G.L.Z. Aditivos Fitogênicos. Porkworld, Campinas, 58, p. 128-136, 2010.

PENZ A.M, SILVA. A; RODRIGUES, O. Ácidos orgânicos na alimentação de aves. In: Conferência APINCO de ciência e tecnologia avícolas, Santos. Anais: Campinas: FACTA, 111-119, 1993.

PERES, L. E. P. *Metabolismo Secundário*. Piracicaba – São Paulo: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. ESALQ/Universidade de São Paulo, p. 1-10, 2004.

POPOFF, M. Genus III. *Aeromonas* Kluyer and Van Niel 1936. In: DRIEG, N. R. (Ed). *Bergey's manual of systematic bacteriology*, Baltimore: Willians and Wilkins, v.1, p.545-584, 1984.

RAA, J. The use of immunostimulatory substances in fish and shellfish farming. *Rev. Fish Biol. Fish*, v. 4, n.3, p. 229-288, 1996.

RANZANI-PAIVA, M.J.T..Hematologia como ferramenta para avaliação da saúde de peixes. In: 2º Simpósio de Nutrição e Saúde de Peixes, 2007. *Anais... 2º Simpósio de Nutrição e Saúde de Peixes*. Botucatu, São Paulo. Universidade Estadual Paulista, 74p.2007

RAVEN, P. H. *Biologia Vegetal*. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001.

RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; EICHHORN, S. E. *Biologia Vegetal*. 7. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2007.

REINHARD, G; LANDMARK, L e FRONDOZA, C, G. Ginger- An herbal medicinal product with broad anti-inflammatory actions. *Journal of medicinal Food*, 8, p.125-132, 2005.

RODRIGUES, D. P.; RIBEIRO, R. V.; *Aeromonas*. In: VIEIRA, R. H. F. *Microbiologia, higiene e qualidade do pescado- teoria e prática*. São Paulo: Varela, 380 p, 2004.

SAKAI, M. Current research status of fish immunostimulants. *Aquaculture*, v.172, n.1-2, p.63-92, 1999.

SANTOS, F.A; SILVA, R.M.; CAMPOS, A.R; et al. 1,8-cineole (eucalyptol) a monoterpene oxide attenuates the colonic damage in rats on acute TNBS-colitis. *Food chemical. Toxicology*, 42(4): p. 579-584, 2004.

SANTOS, V. L.; SOUZA, M. F. V.; BATISTA, L. M.; SILVA, B. A.; LIMA, M S.; SOUZA, A. M. F.; BARBOSA, F. C.; CATÃO, R. M. R. Avaliação da atividade antimicrobiana de *Maytenus rigida* Mart. (Celastraceae). *Rev. Bras. Pl. Med.*, Botucatu, v.13, n.1, p. 68-72, 2011.

SATAKE, F.; PÁDUA, S.B.; ISHIKAWA, M.M. Distúrbios morfológicos em células sanguíneas de peixes em cultivo: uma ferramenta prognóstica. In. TAVARES-DIAS, M. *Manejo e sanidade de peixes em cultivo*. 1º ed. Macapá: Embrapa Amapá, p. 330-45. 2009

SCHLUTER, S.; BERNSTEIN, R.; BERNSTEINS, H.; MARCHALONIS, J. 'Big Bang' emergence of the combinatorial immune system. *Developmental and Comparative Immunology*, v. 23, p. 107-111, 1999.

SHAHIDI, F.; JANITHA, P.K.; WANASUNDARA, P.D. Phenolic antioxidants. *Crit Rev Food Sci Nutr*, v.32, n.1, p. 67-103, 1992.

SHUKLA; Y.; SINGH, M. Cancer preventive properties of ginger: a brief review. *Food chemical. Toxicology*, 45: p. 683-690, 2007.

SILVESTRINI, A. et al. *A cultura do gengibre*. Curitiba: EMATER/PR, 1996.

SIMÕES, C.M.O. et al. *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. Porto Alegre/Florianópolis, Ed. Universidade UFRGS/Ed. da UFSC, 1999.

SNIESZKO, S.F.; AXELROD, I.I.R. *Diseases of fishes. Book 2A: Bacterial diseases of fishes*. New Jersey, USA: T. F. H. Publications p.151, 1971.

TAIZ, I.; ZEIGER, E. *Fisiologia vegetal*. 3 ed. - Porto Alegre: artemed. 2006.

TAVARES-DIAS, M.; MORAES, F.R. *Hematologia de peixes teleósteos*. 1ªed. Ribeirão Preto: M. Tavares-Dias, p. 131. 2004.

TORRECILLAS, S. et al. Immune stimulation and improved infection resistance in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fed mannan oligosaccharides. *Fish & Shellfish Immunology*, v. 23, n. 5, p. 969-981, 2007.

TJENDRAPUTRA, E; TRAN, VH; LIU-BRENNAN, D et al. Effect of ginger constituents and synthetic analogues on cyclooxygenase-2 enzyme in intact cells. *Bioorg chem*; 29: p. 156-163. 2001.

TRALL, M. A. *Hematologia e Bioquímica Veterinária*. 1. ed. São Paulo: Roca., p. 92-109, 2007

VAN ACKER, S. A. B. E.; VAN DEN BERG, D.; TROMP, N. J. L.; GRIFFIOEN, D. H.; VAN BENNEKOM, W. P.; VAN DER VIJGH, W. J. F.; BAST, A. Structural aspects of antioxidant activity of flavonoids. *Free Radical Biology & Medicine*, v. 20 (3), p. 331-342, 1996.

VAN MUISWINKEL, W.B. *The piscine immune system: innate and acquired immunity*. Fish disease and disorders, Cambridge, UK: CAB International, 1995.

YANO, T. The non-specific immune system: humoral defense. *Fish physiology*.v.15, In: G. IWAMA, T. NAKANISHI, Editors, and *The fish immune system: organism, pathogen and environment*, Academic Press, San Diego, CA, p.105–157, 1996.

YOUNG, H.Y.; CHEN, G.L. Analytical and stability of ginger reparations. *Journal of Food, Drug Analyses*, 10, p. 149-153, 2002.

ZAPATA, A. G.; CHIBA, A.; VARAS, A. Cells and Tissues of the Immune System of Fish. In: IWAMA, G., NAKANISHI, T. (Eds.). *The Fish Immune System*. London: Academic Press, p.1-62, 1996.

CAPITULO II

Ginger (*Zingiber officinale*) powder improves growth performance and immune response, but shows limited antioxidant capacity of Nile tilapia infected with *Aeromonas hydrophila*

Abstract

Fish were fed diets containing levels of ginger powder (GgP) to better understand its effects on growth performance, antioxidant capacity and resistance to bacterial infection with *Aeromonas hydrophila*. A group of 540 male Nile tilapia ($8.2\text{g} \pm 0.34$) was randomly distributed in 36 250-L aquaria (15 fish/tank) and fed six practical diets prepared with no ginger supplementation (0 GgP, basal diet, positive control) and graded levels of GgP supplementation at 0.25% (0.25 GgP), 0.5% (0.5 GgP), 0.75% (0.75 GgP), 1% (1 GgP) and 1.5% of GgP diet (1.5 GgP). These diets were formulated to contain 29% digestible protein and 18 MJ digestible energy kg^{-1} . After 30 days feeding trial, growth performance, hematological and immunological parameters and antioxidant enzymes activity were determined. Then, fish were subjected to challenge with *Aeromonas hydrophila* and the mortality was recorded for 15 days and the same parameters and antioxidant enzymes activity were determined after this period. Fish fed diets containing levels above 0.5 GgP showed higher final body weight and specific growth rate compared no ginger supplementation. The highest feed intake was determined for fish fed diets containing 1GgP and 1.5 GgP ($P < 0.05$). As to the hematological and immunological parameters, either before or after bacterial challenge, fish fed 0 GgP and 1.5 GgP showed the worst results for all the parameters. Fish fed 1 GgP showed the highest production for H_2O_2 and NO when compared with the control diet ($P < 0.05$). As to the antioxidant enzyme, fish fed 0.25 GgP and 1GgP were able to maintain the catalase and superoxide dismutase activities after bacterial. On the other hand, fish fed 1.5 GgP showed the worst results. After bacterial challenge, a decrease in mortality was found according to the increased inclusion of ginger. The highest survival rate was determined for fish fed 1 GgP, which was 61.40% higher when compared to control. Although the best results for specific growth rate and feed conversion ratio were determined to be 0.41 and 0.58 % of GgP, respectively, the results obtained for survival rate and immunological response indicated that 1% of GgP improved Nile tilapia resistance against *Aeromonas hydrophila* infection. Therefore, we concluded that 1% GgP is indicated to increase fish disease resistance.

Keywords: bacterial challenge, immunostimulant, *Oreochromis niloticus*, phytogetic compounds, Zingiberene

1. Introduction

Nutrition has been considered not only as an important strategy for improving fish resistance, but also as a significant sustainable alternative for antibiotics and therapeutics commonly used to control fish diseases (Cristani et al., 2007; Baba et al., 2016). Among feedstuffs and additives, a large number of plants and their products, commonly used on traditional Chinese medicine (Dugenci et al., 2003; Hai, 2015) has been tested on animal production, such as swine (Brugalli, 2003; Costa et al., 2011) and poultry (Allen et al., 1997; Hernández et al., 2004).

Medicinal plants can act as appetite stimulator, growth promoter, anti-stress, immunestimulant, antibacterial, antifungal and antiviral in animal production (Citarasu, 2010; Sutuli et al., 2017), mainly due to their compounds, such as phenolics, poliphenols, alkaloids, quinones, terpenoids, lectines and polypeptides (Citarasu, 2010). An extensive range of herbal plants, or their products, such as mistletoe (*Viscum album*) (Dugenci et al., 2003), garlic (*Allium sativa*) (Jejede, 2012) guava (*Psidium guajava* L.) (Giri et al., 2015), onion (*Allium cepa*) (Akrami et al., 2015), sweet orange (*Citrus sinensis*) (Acar et al., 2015), banana (*Musa acuminata*) (Giri et al., 2016), cinnamon (*Cinnamomum* sp.) (Santos et al., 2016), lemon (*Citrus limon*) (Baba et al., 2016) and clove basil (*Ocimum gratissimum*) (Brum et al., 2017), has been tested with several fish species.

Among these medicinal plants, ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) has been studied mainly for its properties such as antibacterial (Jagetia et al., 2003), immunomodulatory (Ali et al., 2008; Nya and Austin, 2009; Talpur et al., 2013; Brum et al., 2017), anti-inflammatory and anti-oxidative (Sukumaran et al., 2016) and growth promoter (Citarasu et al., 2010; Sukumaran et al., 2016; Brum et al., 2017). These studies showed that both ginger powder and its essential oil could be used in fish diets.

As to the ginger powder Nya and Austin (2009) tested the supplementation of 0, 0.05, 0.1, 0.5 and 1g per 100g for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and determined that 0.5g, after 14 days of feeding, resulted in better growth performance and fish

resistance to *Aeromonas hydrophila*. Haghghi and Rohami (2013) evaluated 1% of powdered ginger rhizome and concluded that after 12 weeks feeding trial the rainbow trout immune system was stimulated. Talpur et al. (2013) assessed ginger powder for Asian sea bass (*Lates calcarifer*) on the dietary supplementation of 1, 2, 3, 5 and 10 g.kg⁻¹ for 15 days and concluded that the ginger is a promising immunestimulant for inducing a non-specific immune response, positively influencing blood parameters and has controlling *Vibrio harveyi* infection. More recently, Sukumaran et al. (2016) studied dried ginger concentrations of 0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 and 1% for *Labeo rohita*. After 60 days, it was concluded that 0.8% promoted better growth performance, skin mucus immune parameters and strengthen immunity, therefore representing a promising food additive. Although researches have been conducted using ginger as feed additive for different fish species, there is a lack of studies with Nile tilapia. Recently, Brum et al. (2017) reported the positive effects of ginger oil on Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) growth performance and resistance to *Streptococcus agalactiae*.

Since the powdering process is considered less resource-demanding than essential oil extraction, we conducted a study to investigate the putative performance-enhancing effect of ginger powder on Nile tilapia after 30 days of feeding. Then, fish were infected with *Aeromonas hydrophila* and immunostimulant and anti-oxidative proprieties were assessed. This bacterium was chosen since it has been pointed as the most common and important opportunist pathogen in freshwater fish production (Sebastião et al., 2015).

2. Material and Methods

The experiment consisted of two studies. Firstly, the fish were fed for thirty days with experimental diets containing levels of ginger powder (GgP) to assess their growth performance. Secondly, the fish were challenged with *Aeromonas hydrophila* in order to better understand the immunostimulant and antioxidant capacity of ginger powder.

2.1 Analysis and processing of Ginger

Fresh rhizomes of ginger (*Zingiber Officinale roscoe*) were obtained from a local supermarket (Botucatu, São Paulo, Brazil), then was washed, chopped and dried for 36 hours at 45 °C. The dried ginger was ground by a hammer mill (Marconi, ma090, Piracicaba, São Paulo) and stored in a cold chamber at 5 °C until further use. A sample of

the ginger powder was analyzed at the Agronomic Institute of Campinas (IAC, Campinas, São Paulo, Brazil) and the results are shown in Table 1 and Figure 1.

The chemical analysis of the ginger powder was carried out at the Natural Products Laboratory of the Center for Research and Development of Plant Genetic Resources of the Agronomic Institute of Campinas, (IAC, Campinas, São Paulo). The quantitative analysis of the chemical composition was performed using a gas chromatograph with flame ionization detector (CG-DIC, Shimadzu, GC-2010 / AOC-20i), equipped with a fused silica capillary column DB-5 (30 m x 0.25 mm x 0.25 μ m), helium as entrainment gas, 1.0 mL min⁻¹ flow, 240 °C injector, 230 °C detector, split 1/20 and the following temperature program: 60 °C - 230 °C, 3 °C min⁻¹. The qualitative analysis of the chemical composition of the essential oils was carried out in a gas chromatograph coupled to a mass spectrometer (CG-MS, Shimadzu, QP-5000), operating at 70 eV, equipped with an OV-5 fused silica capillary column (30 m x 0.25 mm x 0.25 μ m), helium as the entrainment gas (1.0 mL min⁻¹), split: 1/20, injector at 240 °C, detector at 230 °C and the following temperature program: 60 °C - 230 °C, 3 °C min⁻¹. The chemical constituents were identified by means of the comparative analysis of the mass spectra of the substances with the database of the CG-EM system (Nist 62.lib), literature and retention index of substances with those obtained by injecting a homogeneous series of n-alkanes in the temperature program described above, applying the Van den Dool and Kratz equation (Van DEN DOOL and KRATZ, 1963; ADAMS, 2007).

The total content of phenolic compounds of GgP was determined by the Folin-Ciocalteu spectrophotometric method (SINGLETON; ORTHOFER; LAMUELA, 1999). Folin-Ciocalteu reagent is a complex solution of polymer ions from phosphomolybdol and phosphotungstic heteropolyacids. This reagent oxidizes the phenolates, reducing the acids to a Mo-W blue complex. The absorbance was measured in spectrophotometer at 760nm. For this purpose, approximately 0.2 g of GgP was weighed, added with 10 mL of 80% ethanol for two minutes and then taken to the ultrasonic bath for 15 minutes and centrifuged at 3500 rpm for 30 minutes. For the analysis, 0.5 mL aliquot of the supernatant was transferred into a tube and 2.5 mL Folin-Ciocalteu reagent diluted in 1:10 water was added. The mixture stood still for five minutes. Then 2 mL of 4% sodium carbonate was added and the tubes left for 2 hours in the dark. The absorbance was measured in UV-mini 1240 (Shimadzu-Co)

spectrophotometer at 760 nm. A blank sample was run under the same conditions and the results of total phenolic compounds were expressed in gallic acid equivalent, based on a gallic acid calibration curve with concentrations ranging from 10 to 100 $\mu\text{g} / \text{mL}$. The chromatographic profile of compounds present in ginger oil extracted from GgP are presented in Figure 1 and the GgP compounds in Table 1.

2.2 Experimental diet

Six practical diets were prepared with no ginger supplementation (0 GgP, basal diet, positive control) and graded levels of GgP supplementation at 0.25% (0.25 GgP), 0.5% (0.5 GgP), 0.75% (0.75 GgP), 1% (1 GgP) and 1.5% of GgP diet (1.5 GgP). These diets were formulated to contain 29% digestible protein and 18 MJ digestible energy kg^{-1} (FURUYA, 2010; NRC, 2011) (Table 2). Diets with and without the ginger powder supplementation were mechanically mixed with water (25% of dry weight) in a mechanical mixer (Ação Científica®, Piracicaba, SP, Brazil) and extruded at 70 °C in a single-screw laboratory extruder (Esteeec, Ribeirão Preto, SP, Brazil). Then, the diets were air dried overnight and stored at 5 °C until further use. The chemical composition of the experimental diets and the ginger powder were analyzed according to AOAC protocols (2000) (Table 2).

2.3 Feeding trial (Study I)

A group of 540 male Nile tilapia was obtained from a commercial fish farm (Registro, SP, Brazil), transferred to AquaNutri Laboratory facilities (FMVZ, Botucatu, SP, Brazil) and kept in quarantine for forty days. Then, they were fed the basal diet with no GgP supplementation for two weeks before starting the feeding period.

A 30-day feeding trial was undertaken, and the growth performance was analyzed according to the levels of GgP. Groups of 15 fish/tank with initial body weight of 8.2 ± 0.34 g (mean \pm SD) were randomly distributed in 36 250 L-aquaria. Each aquarium was considered an experimental unit. Aquaria were supplied with 6 L min^{-1} dechlorinated tap water passing through a biological filter to reduce impurities and ammonia concentration. Water temperature was heater-controlled and kept at 26.5 ± 0.5 °C, dissolved oxygen level was $7.0 \pm 0.2\%$ and pH was 6.4 ± 0.2 . These parameters were monitored once a week using the YSI 556® multi-probe system (YSI Environmental, Yellow Springs, OH, USA). The total ammonia level was 0.01 ± 0.044 ppm determined by a commercial test kit

(Alcon[®], Camboriú, SC, Brazil). Once a week the tanks were cleaned with 10% of water exchange. The photoperiod was maintained at a 12:12 h light:dark schedule.

The centesimal composition of the whole fish from the different treatments and an initial group (15 fish, 8.2 ± 0.34 g) were also determined. The content of crude energy, crude protein, dry matter, crude fat and ash were determined according to AOAC protocols (2000). The analyzes were carried out in the Laboratory of Bromatology of FMVZ, UNESP, Botucatu.

The experimental design was completely randomized and consisted of six treatments and six replicates. At each feeding, fish were hand-fed four or five times until apparent satiation was reached. The feed intake was calculated weekly, using the difference in the diet weight at the beginning and at the end of the week. A 30-day feeding trial was undertaken, and the growth performance was analyzed according to the levels of ginger powder. These parameters were calculated according to:

Initial Weight (IW) = (g for tank) / fish number

Final Body Weight (FBW) = (g for tank) / fish number

Specific Growth Rate (SGR) = $(\ln(\text{FBW}) - \ln(\text{IW})) / 30 * 100$

Feed Intake (FI) = (final g for tank) / fish number

Survival Rate (SUR) = $(\text{initial fish number} - \text{final fish number}) / \text{initial fish number} \times 100$ (%)

Feed Conversion Rate (FCR) = FI/WG

2.4 Challenge with *Aeromonas hydrophila* (Study II)

The bacterial challenge was performed in an independent system. The frozen stock-culture of *Aeromonas hydrophila* was obtained from the Unesp, Microbiology and Parasitology laboratory (Jaboticabal, SP, Brazil). The bacteria was isolated from a virulent outbreak of hemorrhagic septicemia in Nile tilapia at the same Laboratory. It was

isolated from kidney of *Oreochromis niloticus* with clinical signs characteristics of hemorrhagic septicemia, and isolated on tryptic soya broth (TSB) incubated for 24 hours at 28 °C. Then, this material was plated on Starch Ampicillin Phenol Red agar and incubated for 24 hours at 28 °C. Suspected colonies (smooth) Gram-negatives, motility (+) were selected and plated on Triple Sugar Iron agar (TSI) for the same period and at the same incubation temperature. Cultures that showed acid reaction, both at the based and the beveled edge of the agar, with or without formation of gas, were submitted to biochemical characterization. The resulting culture was then maintained (-20 °C) in a glycerol solution until further use.

Before the challenge, an experiment of lethal dose (LD₅₀) was carried out to determine the bacteria concentration according to Plumb (1983). Briefly, the bacteria was grown in BHI (Brain-heart- infusion) at 25 °C for 18h. Then, 120 fish were distributed in 40 L aquaria (four fish/aquarium) and infected with 0.1 mL solution containing 10⁴, 10⁵, 10⁶ and 10⁷ CFU *A. hydrophila* for fish adjusted through 0.5 McFarland scale. The mortality was recorded for 15 days and the bacterial concentration was calculated. Then, after the feeding period, a group of 96 fish (42 ± 2.65 g) was challenged by intraperitoneal injection with 0.1 mL of *A. hydrophila* containing 1×10⁵ (CFU per fish). Moreover, another group of 16 fish fed with no dietary GgP was injected with 0.9% saline solution as a negative control, so it could be verified the putative modifications that occurred in the analyzed parameters were a consequence of the bacterial infection and not due to the stress of manipulation. The mortality was recorded for 15 days.

2.5 Hematological assay (Studies I and II)

The hematological profile was determined from six fish/treatment before the challenge and five fish/treatment after 15 days of bacterial challenge. They were anesthetized with benzocaine solution (67 mg L^{-1}) and blood was collected from the caudal vessel using a tuberculin syringe rinsed with anticoagulant (3% EDTA, Vtec, Química Fina Ltda, Duque de Caxias, RJ, Brazil) for determination of red blood cell (RBC), hemoglobin (Hb), hematocrit (Ht), total plasma protein (TPP) and albumin (ALB). Red blood cell (RBC) was determined by dilution and enumeration using hemocytometer. The hemoglobin was determined by the cyanometalhemoglobin colorimetric method using a commercial kit (Gold Analisa Diagnóstica, Belo Horizonte, MG, Brazil) according to Collier (1944). The hematocrit percentage was determined using the microhematocrit method described by Goldenfarb et al. (1971). The mean corpuscular volume [$\text{MCV} = (\text{Ht} \times 10) / \text{erythrocytes}$] and the mean corpuscular hemoglobin concentration [$\text{MCHC} = (\text{Hb} \times \text{Ht}) \times 100$] were calculated according to Wintrobe (1934).

The leukocyte differentiation was performed in a blood extension stained with May-Grünwald-Giemsa-Wright according to Jain (1986). Differential counting was performed under a microscope at x100 in immersion oil. Two hundred cells was counted to establish the percentage of each cellular component.

The total plasma protein (TPP) was measured using a manual Goldberg refractometer by breaking the microhematocrit capillary just above the leucocyte layer after the hematocrit reading. The albumin concentration (ALB) was determined by the bromocresol method using the commercial kit Labtest Diagnóstica S.A. (Lagoa Santa, Minas Gerais, Brazil) for colorimetric determination. The albumin: globulin ratio (A/G) was determined using albumin and total plasma protein values ($\text{Globulin} = \text{TPP} - \text{ALB}$; $\text{A/G} = \text{ALB}/\text{Globulin}$).

2.6 Activity of the Immune system (Studies I and II)

Blood was collected from six fish per treatment before challenge and five fish after challenge. The blood samples were obtained by means of puncture of the caudal vessel, using plastic syringes and disposable needles, with or without anticoagulant, according to the destination of the samples. The blood samples collected with

anticoagulant-coated syringes were used for the analysis of the reactive oxygen and nitrogen intermediates, while the samples without anticoagulant were destined to serum total protein and serum lysozyme concentrations.

The burst respiratory activity was measured by the production of reactive oxygen intermediates (IRO) and nitrogen (IRN) according to Secombes (1990), with slight modifications. The concentration of lysozyme was determined using the turbid metric assay according to Ellis (1990) and adapted by Abreu (2007). These parameters were determined for six fish/treatment before bacterial challenge and five fish/treatment after bacterial challenge.

The blood was placed in microtubes (1.5 mL) and maintained in an aseptic laminar flow chamber, (PCR model 2.5 - Pachane®, Piracicaba, São Paulo). Subsequently, it was transferred to sterile Falcon tubes containing 7.0 mL of complete culture medium (Leibowitz L-15 medium supplemented with 2.0% fetal bovine serum, 2.0 mM glutamine and gentamicin) and homogenized. Into another Falcon tube were placed 3.0 mL of Percoll 51.0% (v / v) and 3.0 mL of Percoll 34.0% (v / v). Blood was slowly transferred to the Percoll gradient and centrifuged at 1400 rpm for 20 minutes at 4 °C. After this period, the leukocyte layer was collected using a Pasteur pipette and the cells resuspended in 15.0 mL of L-15 and centrifuged at 1000 rpm for 10 minutes at 10.0 °C. This procedure was repeated one more time. Then the cells were resuspended to 1.0 mL of L-15 medium containing 0.1% fetal bovine serum, with the cell concentration 2×10^6 cells mL⁻¹, after counting in a Neubauer's chamber. Aliquots of 0.1 mL of these suspensions were distributed in 96 wells microculture plates, with subsequent incubation (18.0 °C). After two hours, the non-adherent cells were removed and the monocyte monolayer incubated (18.0 °C) for 24 hours.

The production of hydrogen peroxide (H₂O₂) by blood monocytes of fish was determined by means of the oxidation micro-technique of phenol red (PICK and KEISARI 1980). After incubation of the cell cultures for 24 hours, the supernatant was collected for the nitric oxide dosage and the cell layer used for the determination of H₂O₂. The absorbance was determined in automatic Elisa microleader with 620 nm filter. Results were expressed in nmols H₂O₂ / 2×10^5 cells.

Nitric oxide (NO) production by blood monocytes was determined by a colorimetric method, based on Griess's reaction (Green et al., 1981), by combining 0.1

mL of the test sample supernatant with 0.1mL of Griess reagent (Need 0.1% (w / v) and 1.0% (w / v) sulfanilamide in 5.0% H₃PO₄, v / v). The readings were performed in an ELISA microreader at 540 nm. Results were showed in $\mu\text{mol NO} / 2 \times 10^5$ cells.

Determination of lysozyme concentration was based on cell lysis of a suspension of *Micrococcus lysodeikticus* and is measured by the reduction of optical density observed during lysis of the cell wall of the bacterium. Before determining the lysozyme concentration of the fish serum samples, the standard calibration curve was calculated by quantifying the differences in the initial and final optical densities (ΔDO) of different concentrations of standard lysozyme (Sigma L 6876). To determine the standard curve, standard concentrations of 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 3.5, 4, 4.5 and 5 ng μl^{-1} lysozyme were diluted in a sodium phosphate buffer solution (NaH₂PO₄, 0.05 M, pH 6.2), mixed with a *Micrococcus lysodeikticus* suspension (10 mg bacterium 50 mL⁻¹ sodium phosphate buffer) and then the absorbance was measured in a Elisa microleader spectrophotometer at wavelength of 450 nm. From the determined curve, the concentrations of lysozyme in the several samples were quantified using the equation and the respective ΔDO . For this, the serum samples were submitted to a thermal treatment (bath at 56 °C for 30 minutes) for denaturation and inactivation of the complement proteins, ensuring that the lysis of *M. lysodeikticus* is exclusively provoked by the action of lysozyme. In a flat-bottomed 96-well plate was pipetted 25 μl of serum to which 75 μl of sodium phosphate buffer (0.05 M, pH 6.2) was added, then incubated at 26 °C for two minutes. Then, 100 μl of the *M. lysodeikticus* suspension was added. The readings were performed at 5 and 10 minutes in Elisa microleader. Subsequently, the ΔDO (final DO subtracted from the initial) was calculated for the two times and use the best result). The results expressed in $\mu\text{g mL}^{-1}$ of serum.

2.7 Antioxidant enzyme activity (Studies I and II)

Liver samples obtained before and after bacterial challenge were used for antioxidant enzyme analyzes. Fish were killed by a lethal dose of benzocaine solution (300 mg L⁻¹). Liver samples were collected, immediately immersed in liquid nitrogen and stored - 80°C until enzyme assay. Then, one gram of liver samples were homogenized in 5 ml of 0.05 M phosphate buffer (pH 7.0). The homogenate was centrifuged at 5000 rpm for 20 minutes at 4 °C. Supernatant was used for enzyme activity and protein content

assays. Total soluble protein content of the enzyme extract were determined according to Bradford (1976).

Superoxide dismutase (SOD; EC 1.15.1.1) activity was assayed according to the method of Beuchamp and Fridovich (1971), which measures one unit of SOD required to inhibit 50% of nitroblue tetrazolium (NBT). The reaction contained 1.0 mL of NBT $33 \mu\text{mol L}^{-1}$, 50 mM sodium phosphate buffer pH 7.8, 0.25 mL of riboflavin $0.0033 \text{ mmol L}^{-1}$, 0.25 mL of methionine 10 mmol L^{-1} , 0.5 mL of EDTA 0.66 mmol L^{-1} and 50 μL of liver sample. Total protein content was determined according to Bradford (1976). The inhibition of (NBT) was measured spectrophotometrically (Abs) at 560 nm.

Catalase (CAT; EC 1.11.1.6) activity was assayed according to the method of Sinha (1972), by which dichromate in acetic acid is reduced to chromic acetate in the presence of H_2O_2 when heated, forming perchromic acid as an unstable intermediate. The reaction mixture contained 100 μL of liver samples, 500 μL of peroxide hydrogen, and after the reaction dichromate/acetic acid reagent (3:1) was used. The absorbance reading was performed in spectrophotometer at 610 nm. The results expressed as U/mgpt.

Glutathione peroxidase (GPx; EC 1.11.1.9) activity was assayed according to the method of Flohé and Güzler (1984). Oxidized glutathione formed during the GPx reaction is immediately and continuously reduced by the excess activity of glutathione reductase providing a constant level of glutathione (GSH). The concomitant NADPH oxidation can be monitored in a spectrophotometer. The reaction contained 300 μL of phosphate buffer pH 7.4 0.1 M, 200 μL of 2mM GSH, 300 μL of liver samples. The reaction was stopped by the addition of 500 μL of trichloroacetic acid (5%). Then, the reaction was centrifuged at 1500 rpm for 5 minutes and the supernatant was collected. For each 100 μL of supernatant were added 200 μL of phosphate buffer 0.1 M pH 7.4 and 700 μL of DTNB (0.4 mg/mL). The absorbance reading was performed in spectrophotometer at 320 nm. The results expressed as U/mgpt.

2.8 Statistical analysis

Data were analyzed using one-way analysis of variance (ANOVA), followed by Tukey's test to determine possible significant differences among treatments. All analyses were conducted using the Minitab® 16.1.1.0 (Minitab Inc. 2010) software. Differences among treatments were considered significant at $P < 0.05$. Each value of the data was

expressed as mean \pm SD. Statistical analysis was performed by the Student t-test to compare values when the data presented non-parametric behavior. Analyses were performed for determined points of maximum with polynomial regression for final body weight and broken-line for specific growth rate and feed conversion ratio, analysis method described by Zeitoun et al. (1976).

2.9 Ethics statement

CEUA- Animal Ethics Committee of the Veterinary and Animal Science College, São Paulo State University (protocol 10/2016), approved all experimental procedures.

3. Results

3.1 Study I

Fish fed diets containing levels from 0.5 GgP showed better FBW, RWG and FCR compared with those fed 0GgP ($P < 0.05$); however, they were not different from fish fed 0.25GgP. The highest FI was determined for fish fed 1 GgP and 1.5 GgP. There was no significant mortality (Table 3). There was no significant difference on fish body composition after 30 days being fed different dietary GgP supplementation levels (Table 4).

3.2 Study II

As to the hematological parameters, there was no difference ($P > 0.05$) among GgP dietary supplementation levels, either before or after bacterial challenge (Table 5). There was a difference ($P < 0.05$) between RBC values for fish infected with *A. hydrophila*. The same significant difference was observed for fish fed 0 GgP and 1.5 GgP. All of them showed a lower RBC value after bacterial challenge. Comparing values before and after challenge and fish under negative control showed a significant lower value for Hb, except for fish fed 0.5 GgP. Fish fed diets supplemented from 0.75 GgP showed lower values ($P < 0.05$) for Htc after bacterial challenge. *A. hydrophila* infection determined lower MCV for fish fed 0.5 GgP and 1 GgP dietary supplementation level (Table 5).

Regarding TPP, there was no difference ($P > 0.05$) among GgP dietary supplementation levels. However, the bacterial challenge determined significant

differences for fish fed 1.5 GgP diets. Comparing GgP supplementation levels there was a difference ($P < 0.05$) among treatments after bacterial challenge for Alb concentration. The lowest value was determined for fish fed 1.5 GgP and the highest for those fed 1 GgP. When comparing values before and after challenge, fish under negative and positive control showed higher Alb concentration ($P < 0.05$) afterwards. Bacterial challenge determined lower Glob ($P < 0.05$) for fish fed 0.75 GgP, 1 GgP and 1.5 GgP, and higher Alb:Glob ratio for fish fed 1 GgP and 1.5 GgP (Table 6).

As to the immunological parameters, the bacterial challenge determined the highest ($P < 0.05$) production of H_2O_2 for fish fed 0.75 GgP and 1 GgP, followed by fish fed 0.25 GgP and 0.5 GgP. The lowest values were determined for fish fed 1.5 GgP and under both controls (Table 7). As to NO the bacterial challenge resulted in the highest values ($P < 0.05$) for fish fed 0.5 GgP, 0.75 GgP and 1 GgP, followed by 0.25 GgP, 1.5 GgP and negative control. The lowest value was determined for fish fed no GgP dietary supplementation and infected by *A. hydrophila*.

When comparing immunological values before and after challenge (Table 7), there was an increase on H_2O_2 production, for all fish regardless the GgP supplementation level and infection. There was no difference ($P > 0.05$) in values for NO production before and after bacterial challenge. Concerning lysozyme production, bacterial challenge determined an increase on this enzyme after bacterial infection for fish fed 0.25 GgP.

Fish fed with the control (0 GgP) and challenge with *A. hydrophila*, showed a decrease of 38.5 % after the challenge in total leukocyte and 45.5 % for lymphocyte differentiation while the negative control (no infection) did not change during the experimental phases. The treatment 1 GgP showed the highest leukocyte, lymphocyte, neutrophil and monocyte after the challenge ($P < 0.05$). On the other hand, 1.5 GgP expressed the worst value for inclusion of ginger powder with reduction for all the parameters after challenge matching the treatment without ginger after the challenge (Table 8).

As to the GgP supplementation level and the antioxidant enzyme activity there was a difference ($P < 0.05$) after bacterial challenge among treatments (Table 9). Fish fed 0.25 GgP, 0.75 GgP, 1 GgP showed the highest SOD activity, but did not differ from fish fed 0.5 GgP and from negative control. The lowest SOD activity was determined for fish from positive control and for those fed 1.5 GgP.

When comparing values before and after *A. hydrophila* infection there was a decrease ($P < 0.05$) on SOD activity after bacterial challenge for fish from positive control and for those fed 1.5 GgP. There was a decrease ($P < 0.05$) on GPx activity after bacterial challenge for fish fed 0.25 GgP, 0.5 GgP and 1 GgP. There was no change on CAT activity either related to GgP supplementation level, or related to bacterial challenge (Table 9).

After the bacterial challenge, the best result was obtained for fish fed 1 GgP ($P < 0.05$), which did not differ from 0.5, 0.75 and 1.5 GgP. The worst results were obtained for fish fed positive control diet. Fish fed 1 GgP diet presented 61.40% higher survival rate if compared to the control group (0 GgP) (Figure 5).

4. Discussion

Atualmente, a variedade de agentes patógenos encontrados no ambiente aquático somado ao manejo intensivo adotado estimula pesquisas na área de sanidade. Portanto, buscam-se substâncias naturais com efeitos fármacos como alternativa a utilização dos produtos químicos normalmente utilizados na aquicultura (Citarasu, 2010). Esses fármacos apresentam efeitos residuais no ambiente e nos produtos comercializados, o que resulta em sua restrição ou até mesmo proibição em alguns países (Cristani et al., 2007; Baba et al., 2016). Uma das alternativas ao uso dos antimicrobianos, destacam-se as plantas medicinais e seus constituintes, principalmente as que possuem compostos com ação fitoterápica (Hai, 2015; Sutili et al., 2017); Immanuel et al., 2004; Seung-Cheol, 2007).

Para verificação das possíveis ações fitoterápicas do gengibre, foi realizada análise por cromatografia gasosa para determinação dos constituintes e concentrações dos compostos encontrados nesse material. Essa análise demonstrou que o zingibereno é o composto em maior concentração no gengibre utilizado neste estudo, sendo este o terpeno responsável pelo odor e sabor característico desta herbácea (Jolad, 2004). A melhora no peso final, ganho de peso relativo, consumo de ração e conversão alimentar podem ser atribuídos ao aumento na atrato-palatabilidade das dietas com maiores níveis de inclusão de GgP, pois apresentavam maior concentração de zingibereno. O peso final dos peixes foi afetado de forma dose-dependente, enquanto as análises de regressão broken-line determinaram níveis ótimos de suplementação para taxa de crescimento específico e conversão alimentar de 0.58 e 0.41 GgP, respectivamente, indicando que mesmo em

doses relativamente baixas, o GgP foi capaz de apresentar efeitos promotores de crescimento. Resultados semelhantes foram descritos com a truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) para os níveis de inclusão entre 0,1 e 1 g GgP 100g⁻¹ dieta (Nya e Austin, 2009) e para o camarão branco do Pacífico (*Litopenaeus vannamei*) nos níveis de 5% de zingibereno utilizado isoladamente (Chang et al., 2011). Entretanto, resultados opostos foram obtidos por Brum et al. (2017), também com a tilápia-do-Nilo, porém, com o uso de óleo de gengibre, que apresentou maior concentração de 1,8-cineol e, diferentemente do zingibereno, possui uma menor efeito na palatabilidade e possui propriedades antimicrobianas e anti-inflamatórias.

Além do desempenho produtivo, a inclusão do GgP teve ação positiva nos aspectos de saúde analisados, tais como parâmetros hematológicos. A inclusão do GgP, nos níveis entre 0,5 e 1 g 100g⁻¹ dieta favoreceu a manutenção da síntese de eritrócitos, taxa de hemoglobina e da porcentagem de hematócrito em níveis considerados dentro da faixa de normalidade para tilápia-do-Nilo saudável (Hubrec e Smith, 2010; Barros et. al., 2014; Ranzani-Paiva et. al, 2014) após o desafio bacteriano. Tanto os peixes que receberam a dieta sem a suplementação de GgP, quanto os peixes alimentados com a dieta suplementada com 1,5 g GgP 100g⁻¹ apresentaram valores abaixo do considerado saudável, sendo que os alimentados com o nível máximo de suplementação podem ser considerados anêmicos. Esta resposta pode ser explicada pela possível ruptura de membrana causada pela oxidação dos fosfolipídios da membrana dos eritrócitos, consequência da presença de radicais livres oriundos da ação de fagócitos. Futuros estudos devem ser desenvolvidos buscando-se entender a possível diminuição da ação antioxidante do GgP em maiores concentrações.

No que se refere aos parâmetros hematológicos, pesquisas têm demonstrado resultados contraditórios. Melhora no perfil hematológico foi descrito por Nya e Austin (2009) para a truta arco-íris desafiadas com *A. hydrophila*, a partir de 0 g GgP 100g⁻¹, com melhores valores para 1% de inclusão GgP na dieta. Igualmente, Talpur et al. (2013) descrevem nos parâmetros hematológicos analisados para o Asian Sea bass (*Lates calcarifer*) alimentados com dietas suplementadas com 0,5 % de gengibre em pó e desafiados com *Vibrio harvey*. Entretanto, Brum et al. (2017) e Gabor et al. (2012) determinaram piora do perfil hematológico, com quadro de anemia, para a tilápia-do-Nilo e carpa comum (*Cyprinus carpio*), respectivamente, alimentados com dietas

suplementadas com valores de 1% de óleo essencial de gengibre e 1.5% de gengibre em pó, desafiada com *Streptococcus agalactiae*.

Somente os animais que receberam a dieta 1.5 GgP apresentaram alterações significativas na concentração plasmática de PPT após desafio bacteriano, demonstrando que os mesmos não foram capazes de manter os padrões de normalidade frente a inflamação causada pela bacteriose. O aumento crescente da Alb após o desafio até o nível de inclusão de 1 GgP pode ser explicado pela manutenção do equilíbrio fisiológico, o que não ocorreu nos peixes arraçoados com as dietas contendo 1.5 GgP. A Alb é uma proteína plasmática responsável por se ligar a moléculas e realizar o seu transporte pelo sangue mantendo assim a regulação da pressão osmótica. Após o desafio, houve alteração na relação Alb/Glob demonstrando que os animais que receberam as dietas com maiores níveis de inclusão de GgP (1 e 1.5 %) sofreram alterações na concentração de Glob na tentativa de manutenção da higidez. Resultados semelhantes foram descritos por Swain et al. (2006) e Melo et al. (2009).

A produção dos intermediários reativos de oxigênio e nitrogênio e a contagem total e diferencial de leucócitos possibilitou que fossem mensurados aspectos da respostas imune inata, como ferramenta para averiguar a saúde dos peixes infectados com a *A. hydrophila*. Antes do desafio bacteriano os peixes apresentavam características de saúde consideradas dentro dos parâmetros normais para a espécie, podendo-se inferir que não havia desafios impostos até o momento da inoculação com a bactéria. Após o desafio constatou-se possível melhora na atividade de fagócitos, com maior produção de H₂O₂ até o nível 1% de inclusão do GgP. Esses resultados, somados aos parâmetros hematológicos suportam a hipótese da ausência de ação imunomoduladora do GgP na concentração de 1.5 g GgP 100g⁻¹ dieta.

Os monócitos dos peixes arraçoados com dietas contendo 1 GgP apresentaram maior produção de espécies reativas do oxigênio (ERO's) e nitrogênio (ERN's). Tais valores podem ter sido resultado da concentração de compostos fenólicos como o gingerol, paradol e shagaol encontrados no GgP. Esses compostos são responsáveis por diversas funções no sistema imune de peixes, incluindo a ativação de células fagocíticas como neutrófilos e monócitos (BENNY et al., 2004). Além disso, esses mesmos autores sugerem aumento na produção de IL-6. Essa citocina é secretada por macrófagos e linfócitos T para estimular a resposta imune apresentando ação pró-inflamatória.

Para ambos os intermediários, NO e H₂O₂, o nível máximo de inclusão de GgP (1.5 g GgP 100g⁻¹ dieta) determinou valores inferiores aos demais tratamentos; entretanto, similares ao controle, sugerindo que o efeito imunomodulador observado seja dose-dependente. Resultados semelhantes de alterações nas respostas imunológicas da tilápia-do-Nilo foram descritos por Brum et al. (2017) igualmente na concentração de 1.5 %, com o óleo essencial de gengibre. Embora não tenha havido diferença estatística para a atividade da lisozima quanto ao nível de suplementação de GgP, pode-se inferir que houve tendência de maior atividade comparando-se os valores após o desafio. Em comparação com o controle positivo, os peixes que receberam dietas suplementadas com até 1 g GgP 100g⁻¹ dieta demonstraram aumento de 19,5% da atividade dessa enzima, sendo que o nível de 1.5 g GgP 100g⁻¹ dieta determinou somente aumento de 2,2%. Comparando-se com o controle negativo, os aumentos foram de 29,7% e 11,3%, para 1 e 1.5 g GgP 100g⁻¹ dieta da dieta, respectivamente. Esse padrão de resposta da atividade da lisozima pode estar associada aos compostos gingerol, paradol e shagaol presentes no gengibre, os quais apresentam ação imunoestimulante (BENNY et al., 2004).

Assim como observado para os ERO's e ERN's os peixes arraçoados com 1 GgP apresentaram maior contagem total de leucócitos, bem como aumento na quantidade de neutrófilos (neutrofilia) e monócitos encontrados no pós desafio, se comparado aos animais dos outros tratamentos. O aumento no número de células de defesa do organismo também foi observado por Nya e Austin (2009), os quais sugeriram a ação antioxidante antes e durante o desafio, o que contribuiu para eliminação dos radicais danosos, favorecendo a integridade das células sanguíneas e, conseqüentemente, o sistema de defesa inato destes animais. ALSAID et al. (2015) justificaram o favorecimento da migração de leucócitos para o foco da infecção, devido a necessidade de maior ação fagocítica, o que ocorre de forma exacerbada na presença de agentes patógenos; e/ou pela ação provocada pelos componentes do gengibre estimulando a liberação dos mediadores inflamatórios como a citocina GM-CSF, que estimula o aumento de granulócitos e monócitos na corrente sanguínea, justificativa essa apresentada por ROITT et al. (1998). Desta forma, estas hipóteses suportam a melhora da resposta imune dos peixes alimentados com a dieta 1 GgP que se apresentavam mais bem preparados anteriormente ao desafio.

A maior atividade da SOD nos peixes desafiados e alimentados com as dietas suplementadas com 0.75 e 1 g GgP 100g⁻¹ dieta pode ser explicada pela maior ação fagocítica, como evidenciado pelo ensaio de explosão respiratória. Os fagócitos apresentam uma única enzima de membrana, a NADPH oxidase, que tem a capacidade de transformar as moléculas de oxigênio produzidas durante a explosão respiratória em ânion superóxido (Roch, 1999; Secombes, 1990). Consequentemente, a produção elevada de ERO's demandou maior atividade da SOD. Entretanto, ao final do período de desafio foi determinada queda nos valores das enzimas do sistema antioxidante, exceto para o tratamento com 1 g GgP 100g⁻¹ dieta, que teve aumento na atividade da catalase e superóxido dismutase após o desafio bacteriano. Esta queda pode ser atribuída ao esgotamento do sistema antioxidante, devido ao tempo e intensidade que o mesmo foi exigido. Como consequência, pode-se inferir que o organismo estava se recuperando e tentando retornar a homeostase frente à infecção bacteriana imposta.

Esta pesquisa avaliou os efeitos da utilização dietética da farinha de gengibre para a tilápia-do-Nilo demonstrando que 1% de GgP, melhorou o desempenho produtivo, saúde e resistência contra *Aeromonas hydrophila*. Portanto, recomenda-se a utilização da farinha de gengibre em rações funcionais como estratégia nutricional, principalmente nos períodos pré e pós-estresse normalmente ocorridos na tilapicultura.

5. References

- Abreu, J.S. 2007. Suplementação alimentar de pacu (*Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887) com b-1,3- glucano: atividade respiratória de leucócitos, lisozima e estresse por captura. 2007. Tese (Doutorado e Aquicultura) - Centro de Aquicultura, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.
- Acar, Ü., Kesbiç, O.S., Yilmaz, S., Gültepe, N., Türker, A., 2015. Evaluation of the effects of essential oil extracted from sweet orange peel (*Citrus sinensis*) on growth rate of tilapia (*Oreochromis mossambicus*) and possible disease resistance against *Streptococcus iniae*. *Aquaculture* 437, 282-286.
- Adams R.P., 2007. Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry. Carol Stream, Illinois: Allured Publishing Corporation.
- Allen, P. C.; Lydon, J.; Danforth H. 1997. Effects of components of *Artemisia annua*

- On coccidian infections in chickens. *Poultry Science*, Champaign, v. 76, n. 8, p. 1156-1163.
- Alsaid, M., Abuseliana, A.F., Daud, H.H, Mustapha, N.M.,Bejo, S.K., Abdelhadi, Y.M.,Hamdan, R.H. 2015. Haematological, biochemical and clinical signs changes following experimental infection of *Streptococcus agalactiae* in red hybrid tilapia (*Oreochromis* sp.). *Basic Res. J. Agricult. Sci. Rev.* 4 (9), 289-295.
- Aly, S.M., Atti, N.M.A., Mohamed, M.F. 2008. Effects of garlic on the survival, growth, resistance and quality of *Oreochromis niloticus*. 8th international symposium on tilapia in aquaculture. p.227-296.
- Association of Official Agricultural Chemists, 2000. *Official Methods of Analysis of Official Analytical Chemists*, seventeenth ed. Arlington.
- Akrami, R., Gharaei, A., Mansour, M. R., Galeshi, A., 2015. Effects of dietary onion (*Allium cepa*) powder on growth, innate immune response and hemato-biochemical parameters of beluga (*Huso huso Linnaeus,1754*) juvenile. *Fish and Shellfish Immunology* 45, 828-834.
- Baba, E., Acar, U., Öntas, C., Kebiç, O. S., Yilmaz, S., 2016. Evaluation of *Citrus limon* peels essential oil on growth performance, immune response of Mozambique tilapia *Oreochromis mossambicus* challenged with *Edwardsiella tarda*. *Aquaculture* 465, 13-18.
- Barros, M.M., Falcon, D.R., Orsi, R.O., Pezzato, L.E., Fernandes Jr., Guimarães, I.G., Fernades Jr., A.; Padovani, C.R., Sartori, M.M.P., 2014. Non-specific immune parameters and physiological response of Nile tilapia fed β -glucan and vitamin C for different periods and submitted to stress and bacterial challenge. *Fish Shellfish Immun.* 39, 188-195.
- Beauchamp, C., Fridovich, I., 1971 Superoxide dismutase: improved assay and applicable to acrylamide gels. *Anal. Biochem.* 44, 276-287.
- Benny, K.H., Tam, B.K., Vanitha, J. 2004. Immunomodulatory and antimicrobial effects of some traditional Chinese medicinal herbs: A review. *Current medicinal Chemistry* 11, 1423-1430.
- Bradford, M.M., 1976 A rapid method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of proteinage binding. *Analitical Biochemistry* 72, 248-254.

- Brugalli, I. 2003. Alimentação alternativa: a utilização de fitoterápicos ou nutracêuticos como moduladores da imunidade e desempenho animal. In: Simpósio sobre Manejo e Nutrição de Aves e Suínos. Anais... Campinas: CBNA, p. 167-182.
- Brum, A., Pereira, S.A., Owatari, M.S., Chagas, E.C., Chaves, F.C.M., Mourino, J.L.P., Martins, M.L. 2017. Effects of dietary essential oils of clove basil and ginger on Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) following challenge with *Streptococcus agalactiae*. *Aquaculture* 468, 235-243.
- Chang, J., 2011. Medicinal herbs: Drugs or dietary supplements? *Biochem, Pharmacol* 59, 211-219.
- Citarasu, T. 2010. Herbal biomedicines: a new opportunity for aquaculture industry. *Aquac. Int.* 18, 403-414.
- Collier, H.B., 1944. The standardization of blood haemoglobin determination. *Can. Med. Assoc. J.* 50, 550-552.
- Costa, L.B., Berenchtein, B., Almeida, V.V., Tse, M.L.P., Braz, D.B., Andrade, C., Mourão, G.B., Miyada, V.S. 2011. Phytobiotic additives and sodium butyrate as growth promoters of weanling pigs. *Arch. zootec.* vol.60 no.231.
- Cristani, M., D'Arrigo, M., Mandalari, G., Castelli, F., Sarpietro, M.G., Micieli, D., Venuti, V., Bisignano G., Saija, A., Trombetta, D., 2007. Interaction of four monoterpenes contained in essential oils with model membranes: Implications for their antibacterial activity. *J. Agr. Food Chem.* 55, 6300-6308.
- Dugenci, S.K., Arda, N., Candan, A. 2003. Some medicinal plants as immunostimulant for fish. *Journal of Ethnopharmacology* 88,99-106.
- Ellis, A.E. Lysozyme assays. In: Stolen, J.S.; Fletcher, T.C.; Anderson, D.P.; Robertson, B.S.; Muiswinkel, W.B. 1990. (Org.) *Techniques in Fish Immunology*. Fair Heaven: SOS Publications. P.101-103.
- Flohè, L.; Günzler, W.A., 1984. *Methods Enzymol.* P 105, 114.
- Furuya, W. 2010. Tabelas brasileiras para a nutrição de tilápias. Toledo: GFM.
- Gabor, E., Alrel, S., Bentea, M., Maldarasanu, T., Arion, A. 2012. The effects of some phytoadditives on growth performances and blood parameters in common carp (*Cyprinus carpio*) L. juveniles. *Bull. UASVM Anim. Sci. Biotechnol* 69,1-2.
- Giri, S.S., Sen, S.S., Chi, C., Kim, H.J., Yun, S., Park, S.C., Sukumaran, V. 2015. Effect of guava leaves on the growth performance and cytokine gene expression of *Labeo*

- rohita* and its susceptibility to *Aeromonas hydrophila* infection. Fish and Shellfish Immunology 46, 217-224.
- Giri, S.S., Jun, J.W., Sukumaran, V., Park, S.C. 2016. Dietary administration of banana (*Musa acuminata*) peel flour affects the growth, antioxidant status, cytokine responses, and disease susceptibility of rohu, *Labeo rohita*. J. Immunol.Res.<http://dx.doi.org/10.1155/2016/4086591>.Article ID 4086591.
- Goldenfarb, P.B., Bowyer, F.P., Hall, E., Brosious, E., 1971. Reproducibility in the hematology laboratory: the microhematocrit determination. Am. J. Clin. Path., 56, 3539.
- Green, L.C., Luguriaga, V.R., Wager, D.A., Rand, W., Istfan, N., Yeung, V.R.,Tannenbaum, S.R.1981. Nitrate biosynthesis in man. Proceedings of the Nationals Academy of Sciences 78, 7764-7768.
- Haghighi, M., Rohani, M.S. 2013. The effects of powdered ginger (*Zingiber officinale*) on the haematological and immunological parameters of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. Jour.of Med. Plant and Herbal Therapy Research 1, 8-12.
- Hai, N.V. 2015. The use of medicinal plants as immunostimulants in aquaculture: A review. Aquaculture 446, 88-96.
- HERNANDÉZ, F.; MADRID, J.; GARCÍA, V.; ORENCO, J.; MEGÍAS, M. D. 2004 Influence of two plant extracts on broilers performance, digestibility, and digestive organ size. Poultry Science, Champaign, v. 83, n. 2, p. 169-174.
- Hrubic, T.C., Smith, S.A., 2010. Hematology of fishes, in: Weiss, D.J., Wardrop, K.J. (Eds.), Schalm's veterinary hematology, sixth ed. Blackwell Publishing, pp. 994-1003.
- Immanuel, G., Vincybai, V.C., Sivaram, V. Palavesam, A., Mariam, M.P., 2004. Effect of Butanolic Extracts from terrestrial herbs and seaweeds on the survival, growth and pathogen (*Vibrio parahaemolyticus*) load on shrimp *Penaeus indicus juvenilis*.Aquaculture 236, 53-65.
- Jagetia, G.C., Baliga, M.S., Venkatesh, P., Ulloor, J.N. 2003. Influence of Ginger Rhizome (*Zingiber Officinale* Roscoe) on survival, glutathione and lipid peroxidation in mice after whole body exposure to gamma radiation. Radiation Research 160, 584-592.
- Jain, N.C. 1986. Schalm's veterinary haematology. 4.ed.: Lea & Febiger, Philadelphia.

- Jejede, T., 2012. Effect of garlic (*Allium sativum*) on growth, nutrient utilization, resistance and survival of *Tilapia Zilli* (Gervais 1852) fingerlings. *J. Agric. Sci.* 4. 269-274.
- Jolad, S.D.; Lantz, R.C; Solym, A.M; et al. 2004. Fresh organically grown ginger (*Zingiber officinale*): Composition and effects on LPS-induced PGE (2) production. *Phytochemistry*, 65: 1937-1954.
- Melo, D.C., Oliveira, D.A.A., Melo, M.M., Júnior, D.V., Teixeira, E.A., Guimarães, S.R., 2009. Proteic electrophoretic profile of chitralada tilapia nilotic (*Oreochromis niloticus*), exposed to hypoxia chronic stress. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, 61, 1183-1190.
- Minitab Inc., 2010. Minitab: Data analysis software, release 16.1.1.0. Minitab Inc, State College.
- National Research Council, 2011 Nutrient Requirements of Fishes and Shrimp National Academies Press, Washington, DC.
- Nya, E. J.; Austin, B. 2009. Use of dietary ginger, *Zingiber officinale* Roscoe, as an immunostimulant to control *Aeromonas hydrophila* infections in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Journal of Fish Diseases*, v.32, p.971–977.
- Pick R., and Keisari Y. 1980. A simple colorimetric method for the measurement of hydrogen peroxide produced by cells in culture. *Journal of Immunological Methods* 38, 161-170.
- Ranzani-Paiva, M.J.T., Lombardi, J.V., Corleto, F., 2014. Hematologia e histopatologia de tilápia-do-nilo exposta a concentrações sub-letais de selenito de sódio (Na_2SeO_3 Se^{4+}). *Bol. Inst. Pesca*, 40, 23-33.
- Roch, P. 1999. Defense mechanisms and disease prevention in farmed marine invertebrates. *Aquaculture* 172,125-145.
- Roitt, I.; Brostoff, J.; Mali, D. 1998. *Immunology*. London: Mosby. 423p.
- Santos, W. M., Brito, T.S., Prado, S.A., Oliveira, C.G., Paula, A.C., Melo, D.C. 2016. Cinnamon (*Cinnamomum* sp.) inclusion in diets for Nile tilapia submitted to acute hypoxic stress. *Fish and Shellfish Immunology* 54, 551-555.
- Sebastião, F.A., Furlan, L.R., Hashimoto, D.T., Pilarski, F. 2015. Identification of bacterial fish pathogens in Brazil by direct colony PCR and 16S rRNA gene sequencing. *Advances in Microbiology*. 5,409-424.

- Secombes, C.J. 1990. Isolation of salmonid macrophages and analysis of their killing activity. In: Stolen, J., Fletcher, T.C., Anderson, D.P., Roberson, B.S., Van Muiswinkel, W.B. (Eds). *Techniques in fish Immunology*. Fair Haven: SOS Publications, p.137-154.
- Seung-Cheol, J., Gwan-Sik, J., Gwang-Soon, I., Si-Woo, I., Jin-Hyung, Y., Kenji, T., 2007. Dietary medicinal herbs improve growth performance, fatty acid utilization, and stress recovery of Japanese flounder. *Fish. Sci.* 73, 70-76.
- Singleton V.L, Orthofer R., Lamuela-Raventos R.M. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin–Ciocalteu reagent. *Method. Enzymol.* 299, 152–178.
- Sinha, A.K., 1972. Colorimetric assay of catalase. *Analytical biochemistry* 47, 389-394.
- Sukumaram, V., Park, S.C., Giri, S.S. 2016, Role of dietary ginger *Zingiber officinale* in improving growth performances and immune functions of *Labeo rohita* fingerlings. *Fish and shellfish immunology* 57, 362-370.
- Suttili, F.J., Gatlin III, D.M., Rossi Jr., W., Heinzmann, B.M., Baldisserotto, B., 2017. In vitro effects of plant essential oils on non-specific immune parameters of red drum. (*Sciaenops Acellatus* L. J. Anim Physiol. Anim. Nutr. [Http://dx.doi.org/10.1111/jpn.12488](http://dx.doi.org/10.1111/jpn.12488)).
- Swan, P., Sahoo, P.K., Ayyapan, S. 2006. *Fish and Shellfish Immunology: An introduction*. Narendra Publishing house. Delhi.
- Talpur, A.D., Ikhwanuddin, M., 2013. *Azadirachta indica* (neem) leaf dietary effects on the immunity response and disease resistance of Asian seabass. *Lates calcarifer* challenged with *vibrio harveyi*. *Fish and Shellfish Immunology* 34, 254-264.
- Van Den Pool, H., Kratz, P.D. 1963. A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas—liquid partition chromatography. *Journal of Chromatography*. Vol 11, P 463-471.
- Wintrobe, M.M., 1934. Variations in the size and hemoglobin content of erythrocytes in the blood of various vertebrates. *Folia Haematologica* 51, 32-49.
- Zeitoun, I.H., Dullrey, D.E., Magee, W.T., Gill, J.L., Bergen, W.G. 1976. Quantifying nutrient requirements of fish *J. Fish. Res. Board Can.*, 33 (1976), P. 167-172

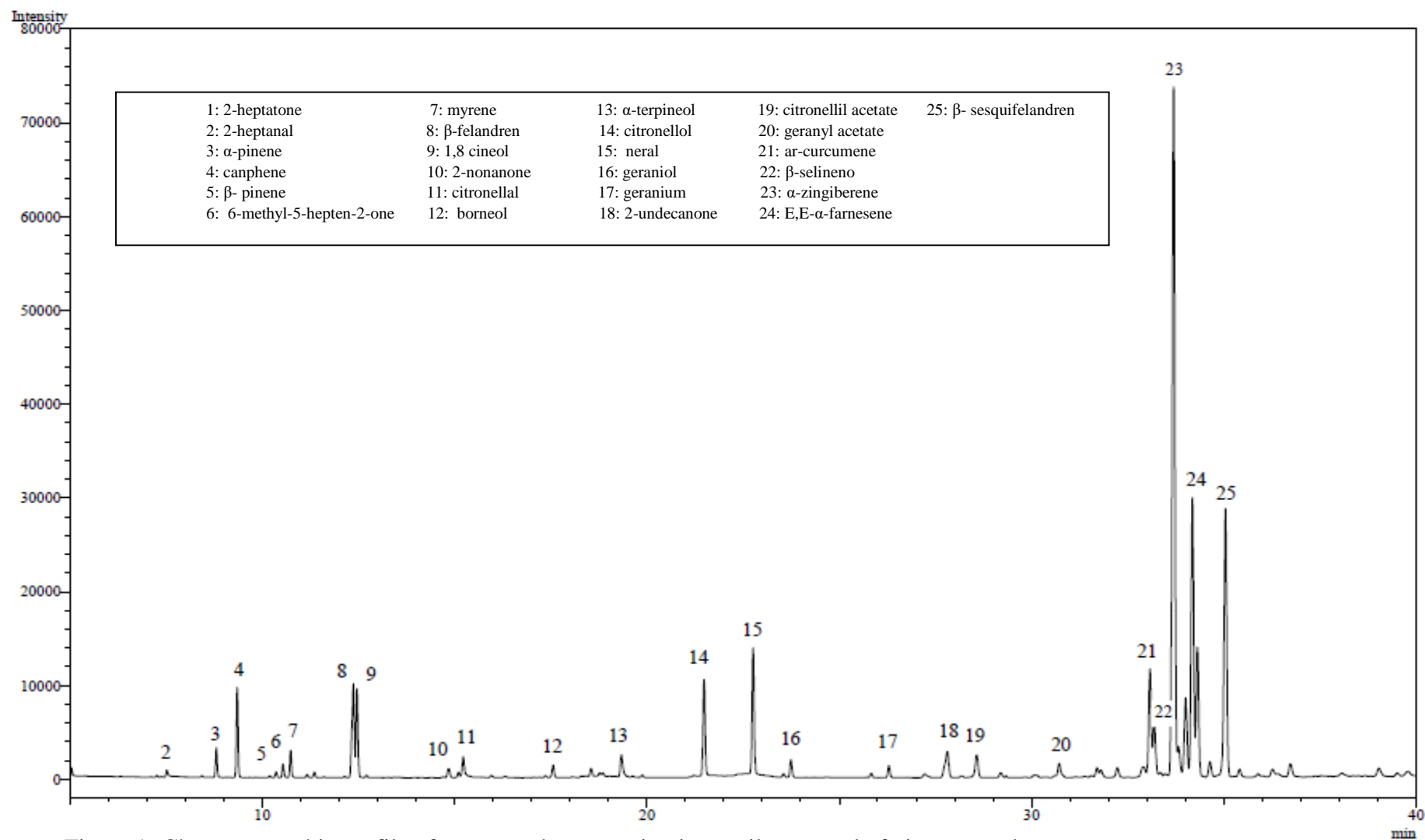


Figure 1: Chromatographic profile of compounds present in ginger oil extracted of ginger powder.

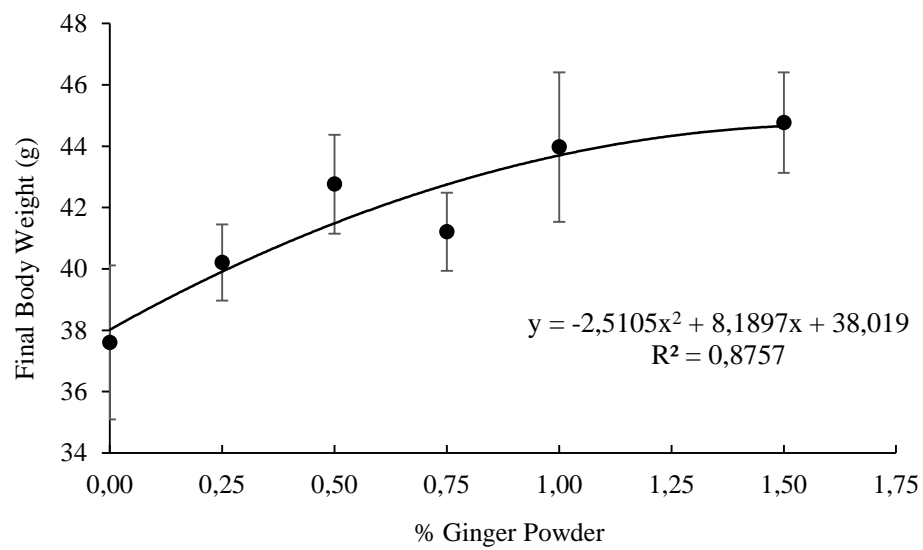


Figure 2: Effect of dietary ginger powder supplementation on Final body weight. Data expressed as mean \pm SD. Maximum point: 1.63 % of ginger powder.

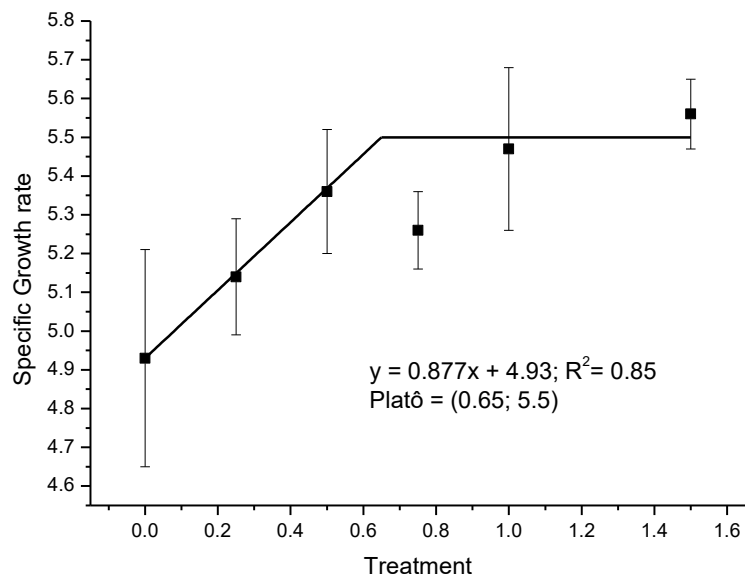


Figure 3: Effect of dietary ginger powder supplementation on Specific growth rate. Data expressed as mean \pm SD.

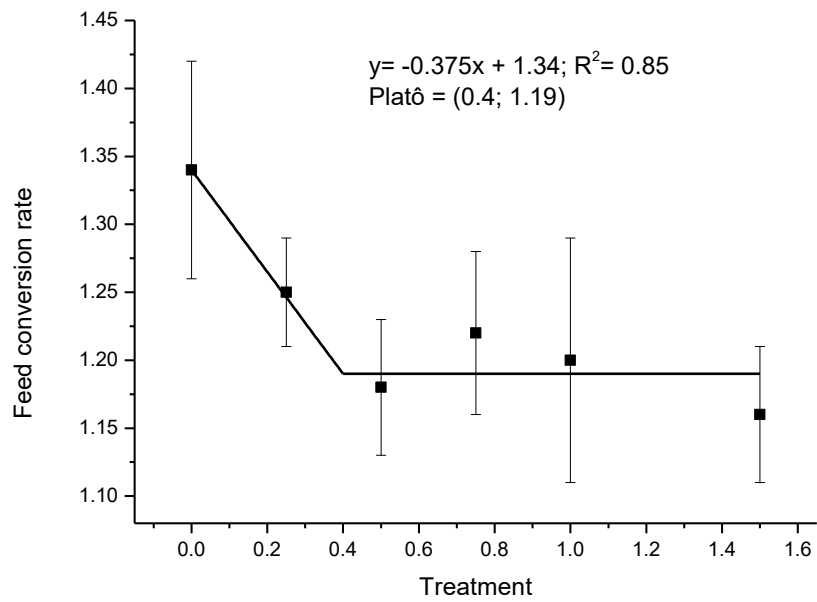


Figure 4: Effect of dietary ginger powder supplementation on Feed conversion rate. Data expressed as mean \pm SD.

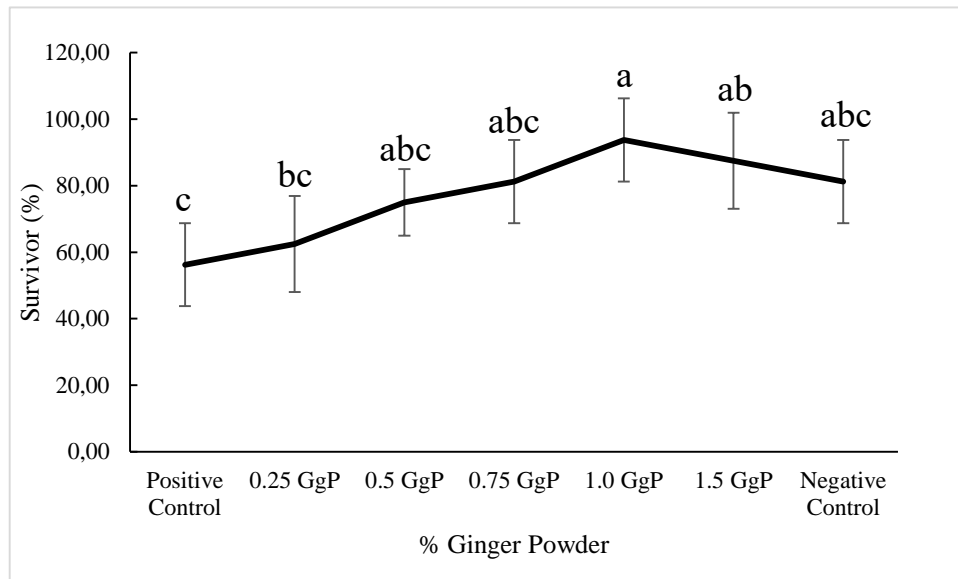


Figure 5: Effect of dietary ginger powder supplementation on mortality after the bacteria challenge. Data expressed as mean \pm SD.

Table 1– Chemical composition (%) and classification of ginger powder.

Classification	Substance	IR _L	IR _C	100g	Ginger
Ketones	2-heptanone	892	890	0.2	t
	2-nonanone	1090	1088	0.8	0.3
	2-undecanone	1294	1290	1.2	1.5
Monoterpenes	Canphene	954	946	12.8	2.5
	β -pinene	979	974	0.6	0.1
	Myrene	991	988	2.4	0.8
	Geranyl acetate	1381	1380	t	0.6
	β -felandren	1029	1026	8.7	3.9
	1,8 cineole	1031	1028	10.7	2.8
	Citronellil acetate	1352	1350	t	0.9
	Citronellal	1153	1149	1.7	0.6
	Borneol	1169	1162	1	0.4
	α -terpineol	1188	1187	1.5	0.9
	Citronellol	1225	1225	18.7	3.4
	Neral	1238	1238	26.4	4.4
	α -pinene	939	931	3.5	0.8
	Geraniol	1252	1251	0.5	0.6
	Geranium	1267	1268	0.3	0.4
Sesquiterpenes	α -curcumene	1480	1479	1.1	4.5
	β -selineno	1490	1488	t	2.1
	α -zingiberene	1493	1492	1.1	31.3
	E,E- α -farnesene	1505	1505	0.7	12.2
	β -sesquifelandren	1522	1521	1	12.1
Hemiterpene	6 methyl-5- hepten-2-one	985	981	1.7	0.4
Alcohol	2-heptanal	896	897	0.3	0.2
Total Identified				96.9	87.7

t = trace $\geq 0,1$ IR_C= Retention rate calculatedIR_{lit}= Index of retention of literature (Adams, 2007)

Phenolic compounds: 600 mg Gallic acid / 100g dry matter GgP

Table 2 – Formulation and chemical composition of the experimental diets.

	0 GgP	0.25 GgP	0.5 GgP	0.75 GgP	1.0 GgP	1.5 GgP
Soybean meal (g·kg ⁻¹)	506.62	559.01	559.82	560.64	561.45	505.33
Corn starch (g·kg ⁻¹)	441.06	386.04	381.44	378.84	374.24	422.83
Soybean oil (g·kg ⁻¹)	23.64	18.99	19.26	18.52	19.79	23.14
L-Lysine (78%) (g·kg ⁻¹)	1.05	-	-	-	-	1.06
DL-Methionine (98%) (g·kg ⁻¹)	1.72	2.19	2.19	2.2	2.2	1.72
L-Threonine (98,5%) (g·kg ⁻¹)	2.75	2.7	2.69	2.69	2.69	2.45
L-Tryptophan (98%) (g·kg ⁻¹)	-	0.05	0.05	0.05	0.05	-
Dicalcium phosphate (g·kg ⁻¹)	16.05	21.12	21.14	21.16	21.18	22.07
Vitamin C ¹ (g·kg ⁻¹)	0.9	0.9	0.9	0.9	0.9	0.9
Premix Vit/Min ² (g·kg ⁻¹)	6.3	6.3	6.3	6.3	6.3	6.3
BHT ³ (g·kg ⁻¹)	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
NaCl (g·kg ⁻¹)	1	1	1	1	1	1
Ginger powder⁴ (g·kg⁻¹)	0	2.5	5	7.5	10	15
Chemical analysis						
Crude Protein (%)	32.34	32.97	33.26	32.69	31.97	32.07
Crude Energy (MJ·kg ⁻¹)	18.72	18.53	18.52	18.68	18.78	18.45
Crude Fat (%)	6.27	6.87	6.72	6.59	6.72	6.3
Ash (%)	6.33	6.43	6.36	6.41	6.50	6.51
Crude fiber (%)	5.05	5.44	4.90	5.06	5.21	4.96
Dry matter (%)	95.91	93.06	92.04	92.25	91.99	91.47

¹Vitamin C – Rovimix[®] Stay – C[®] 35 – DSM. Nutritional Products, Switzerland.

²Vitamin and Mineral Premix (kg of product): vitamin A = 1,200,000 IU; vitamin D3 = 200,000 IU; vitamin E = 12,000 mg; vitamin K3 = 2,400 mg; vitamin B1 = 4,800 mg; vitamin B2 = 4,800 mg; vitamin B6 = 4,000 mg; vitamin B12 = 4,800 mg; folic acid = 1,200 mg; calcium pantothenate = 12,000 mg; biotin = 48 mg; choline = 65,000 mg; nicotinic acid = 24,000 mg; Mn = 4,000 mg; Zn = 6,000 mg; I = 20 mg; Co = 2 mg; Cu = 4 mg e Se = 20 mg.

³Butylated hydroxytoluene – antioxidant.

⁴Ginger powder – Chemical composition: dry matter: (86.16%), crude protein (10.21%), crude energy (15.76 MJ·kg⁻¹), crude fiber (11.47%), crude fat (3%)

Table 3 – Initial weight (IW), final body weight (FBW), specific growth rate (SGR), feed intake (FI), feed conversion rate (FCR), survival (SUR) of Nile tilapia fed diet supplemented with graded levels of ginger powder for 30 days.

	Diets						P value
	0 GgP	0.25 GgP	0.5 GgP	0.75 GgP	1 GgP	1.5 GgP	
IW (g)	8.56 (±0.27)	8.61 (±0.33)	8.56 (±0.27)	8.5 (±0.28)	8.5 (±0.18)	8.44 (±0.17)	0.904
FBW (g)	37.6 d (±2.51)	40.21 cd (±1.24)	42.76 abc (±1.61)	41.21 bc (±1.27)	43.97 ab (±2.44)	44.77 a (±1.64)	0.001
SGR (%)	4.93 c (±0.28)	5.13 bc (±0.15)	5.36 ab (±0.15)	5.26 ab (±0.09)	5.48 a (±0.20)	5.55 a (±0.08)	0.001
FI (g)	38.69 b (±1.56)	39.38 b (±0.97)	40.27 b (±1.15)	39.84 b (±1.13)	42.3 a (±1.13)	42.49 a (±0.84)	0.001
FCR	1.34 b (±0.08)	1.25 ab (±0.04)	1.18 a (±0.05)	1.22 a (±0.06)	1.20 a (±0.09)	1.16 a (±0.05)	0.001
SUR (%)	100	100	100	100	100	100	

Values are means of six replicates. No significantly difference at $P > 0.05$ (Tukey Test)

0 GgP: no ginger powder supplementation 0% of ginger powder kg^{-1} diet; 0.25 GgP: diet supplemented with 0.25 % of ginger powder kg^{-1} diet; 0.5 GgP: diet supplemented with 0.5 % of ginger powder kg^{-1} diet; 0.75 GgP: diet supplemented with 0.75 % of ginger powder kg^{-1} diet; 1 GgP: diet supplemented with 1 % of ginger powder kg^{-1} diet, 1.5 GgP: diet supplemented with 1.5 % of ginger powder kg^{-1} diet.

Table 4 – Centesimal composition of body of Nile Tilapia

	Diets							P value
	Initial group	0 GgP	0.25 GgP	0.5 GgP	0.75 GgP	1 GgP	1.5 GgP	
Crude Energy (kcal)	4893 (±50.38)	5587 (±45.96)	5627 (±15)	5603 (±104.02)	5548 (±59.39)	5558 (±13.60)	5478 (±99.62)	0.385
Crude Protein (%)	51.30 (±3.93)	55.10 (±5.08)	50.76 (±1.24)	53.39 (±2.3)	53.20 (±2)	52.25 (±2.51)	54.97 (±1.71)	0.279
Crude Fat (%)	20.51 (±1.03)	34.88 (±2.34)	35.66 (±2.41)	33.19 (±1.42)	35.01 (±0.63)	35.78 (±0.58)	37.59 (±1.4)	0.115
ASH (%)	17.70 (±0.66)	10.53 (±0.87)	9.77 (±0.85)	9.74 (±0.33)	10.07 (±0.70)	9.58 (±0.57)	9.93 (±0.67)	0.633
Dry matter	19.65 (±0.52)	25.67 (±0.28)	26.15 (±0.31)	27.84 (±0.40)	29.60 (±0.82)	28.02 (±0.55)	27.41 (±0.56)	0.328

Values are means of six replicates. No significantly difference at $P > 0.05$ (Tukey Test)

0 GgP: no ginger powder supplementation 0% of ginger powder kg^{-1} diet; 0.25 GgP: diet supplemented with 0.25 % of ginger powder kg^{-1} diet; 0.5 GgP: diet supplemented with 0.5 % of ginger powder kg^{-1} diet; 0.75 GgP: diet supplemented with 0.75 % of ginger powder kg^{-1} diet; 1 GgP: diet supplemented with 1 % of ginger powder kg^{-1} diet, 1.5 GgP: diet supplemented with 1.5 % of ginger powder kg^{-1} diet

Table 5 – Hematological parameters of Nile tilapia fed for 30 days with diet supplemented with graded levels of ginger powder and submitted a bacterial challenge.

		Diets							P value
		No bacterial challenge	0 GgP	0.25 GgP	0.5 GgP	0.75 GgP	1 GgP	1.5 GgP	
RBC (10 ⁶ /μL)	Before Challenge	2.06 A (±0.14)	2.06 A (±0.14)	1.98 (±0.16)	1.99 (±0.13)	2.08 (±0.21)	2.15 (±0.12)	2.24 A (±0.11)	0.056
	After Challenge	1.83 B (±0.13)	1.65 B (±0.22)	1.63 (±0.43)	1.81 (±0.27)	1.84 (±0.28)	1.99 (±0.17)	1.53 B (±0.26)	0.148
Hb (g · dL⁻¹)	Before Challenge	7.89 A (±0.69)	7.89 A (±0.69)	7.73 A (±0.87)	7.67 (±0.93)	7.94 A (±0.75)	8.27 A (±0.38)	8.42A (±0.36)	0.399
	After Challenge	6.84 B (±0.82)	5.90 B (±1.11)	6.13 B (±1.18)	6.31 (±1.5)	6.14 B (±0.92)	6.22 B (±0.94)	5.43 B (±1.13)	0.733
Hct (%)	Before Challenge	31.5 (±4.82)	31.5 (±4.82)	35 (±3.95)	34 (±1.94)	34.75 A (±1.69)	35.8 A (±2.73)	36.4 A (±1.88)	0.120
	After Challenge	28.6 (±3.48)	26.3 (±2.44)	25.95 (±7.47)	28.1 (±4.94)	28.25 B (±4.37)	27.25 B (±3.56)	23.75 B (±4.5)	0.671
MCV(fL)	Before Challenge	152.76 (±19.56)	152.76 (±19.56)	176.71 (±12.01)	170.68 A (±7.90)	167.66 (±13.85)	166.44 A (±5.51)	163.21 (±16.14)	0.218
	After Challenge	155.80 (±12.76)	160.31 (±17.33)	155.88 (±25.21)	154.47 B (±5.70)	153.30 (±9.26)	136.42 B (±13.94)	155.06 (±9.23)	0.262
MCHC (%)	Before Challenge	25.42 (±3.42)	25.42 (±3.42)	22.05 (±0.97)	22.62 (±2.64)	22.81 (±1.29)	23.12 (±0.77)	23.18 (±1.77)	0.118
	After Challenge	23.39 (±1.3)	22.51 (±4.21)	24.92 (±3.03)	22.25 (±2.16)	21.84 (±1.96)	22.87 (±2.29)	22.84 (±1.25)	0.582

Standard deviation –values of six replicates before challenge and five after the challenge.

Uppercase letters compare the hematological response of fish in the same treatment before and after bacterial challenge stress by T test ($P < 0.05$).

No bacterial challenge (Negative control): No ginger supplementation and not challenged with bacteria, injected a saline solution (0.9%).

0 GgP (Positive Control): challenged with bacteria and no ginger powder in the diet.

0.25 GgP: Diet supplemented with 0.25 % of ginger powder kg⁻¹ diet; 0.5 GgP: diet supplemented with 0.5 % of ginger powder kg⁻¹ diet; 0.75 GgP: diet supplemented with 0.75% of ginger powder kg⁻¹ diet; 1 GgP: diet supplemented with 1 % of ginger powder kg⁻¹ diet; 1.5 GgP: diet supplemented with 1.5 % of ginger powder kg⁻¹ diet.

Table 6 – Total plasma protein (TPP), albumin (Alb), globulin (Glob) and albumin:globulin ratio (A:G) of Nile tilapia fed diet supplemented with graded levels of ginger powder for 30 days and submitted a bacterial challenge.

		Diets							P value
		No bacterial challenge	0 GgP	0.25 GgP	0.5 GgP	0.75 GgP	1 GgP	1.5 GgP	
TPP (mg dL⁻¹)	Before Challenge	2.62 (±0.35)	2.62 (±0.35)	2.76 (±0.39)	2.60 (±0.43)	2.99 (±0.33)	2.94 (±0.28)	3.00 A (±0.16)	0.163
	After Challenge	2.62 (±0.46)	2.7 (±0.34)	2.47 (±0.67)	2.55 (±0.45)	2.59 (±0.36)	2.78 (±0.48)	2.36 B (±0.11)	0.302
Alb (mg dL⁻¹)	Before Challenge	0.67 B (±0.08)	0.67 B (±0.08)	0.71 (±0.15)	0.71 (±0.20)	0.75 (±0.11)	0.75 (±0.90)	0.76 (±0.13)	0.842
	After Challenge	0.86 abA (±0.13)	0.77 bA (±0.11)	0.79 ab (±0.08)	0.81 ab (±0.14)	0.84 ab (±0.15)	1.12 a (±0.31)	0.73 b (±0.09)	0.025
Glob (mg dL⁻¹)	Before Challenge	1.95 (±0.29)	1.95 (±0.29)	2.04 (±0.31)	1.89 (±0.27)	2.24 A (±0.23)	2.18 A (±0.25)	2.23 A (±0.08)	0.099
	After Challenge	1.77 (±0.53)	1.95 (±0.33)	1.60 (±0.37)	1.63 (±0.49)	1.72 B (±0.40)	1.75 B (±0.19)	1.43 B (±0.14)	0.523
Alb:Glob	Before Challenge	0.34 (±0.04)	0.34 (±0.04)	0.35 B (±0.07)	0.37 (±0.07)	0.33 (±0.02)	0.35 B (±0.06)	0.34 B (±0.05)	0.915
	After Challenge	0.54 (±0.23)	0.40 (±0.09)	0.51 A (±0.1)	0.55 (±0.29)	0.53 (±0.25)	0.63 A (±0.14)	0.51 A (±0.11)	0.707

Standard deviation –values of six replicates before challenge and five after the challenge.

Uppercase letters compare fish in the same treatment before and after bacterial challenge stress by T test ($P < 0.05$).

Lowercase letters compare fish between treatments before and after bacterial challenge stress by Tukey test ($P < 0.05$).

No bacterial challenge (Negative control): No ginger supplementation and not challenged with bacteria, injected a saline solution (0.9%).

0 GgP (Positive Control): challenged with bacteria and no ginger powder in the diet.

0.25 GgP: Diet supplemented with 0.25 % of ginger powder kg⁻¹ diet; 0.5 GgP: diet supplemented with 0.5 % of ginger powder kg⁻¹ diet; 0.75 GgP: diet supplemented with 0.75% of ginger powder kg⁻¹ diet; 1 GgP: diet supplemented with 1 % of ginger powder kg⁻¹ diet; 1.5 GgP: diet supplemented with 1.5 % of ginger powder kg⁻¹ diet.

Table 7 – Mean values of nitrogen (NO) and oxygen (H₂O₂) reactive intermediates produced by monocytes of Nile tilapia fed diet supplemented with graded levels of ginger powder for 30 days and submitted a bacterial challenge.

		Diets						P value	
		No bacterial challenge	0 GgP	0.25 GgP	0.5 GgP	0.75 GgP	1 GgP	1.5 GgP	
H₂O₂ (nmol)	Before Challenge	0.227 B (±0.018)	0.227 B (±0.018)	0.229 B (±0.045)	0.205 B (±0.015)	0.19 B (±0.04)	0.19 B (±0.017)	0.182 B (±0.03)	0.038
	After Challenge	0.326 cA (±0.04)	0.304 cA (±0.031)	0.439 bA (±0.046)	0.503 bA (±0.018)	0.624 aA (±0.024)	0.7 aA (±0.05)	0.324 cA (±0.09)	0.001
NO (µmol)	Before Challenge	9.56 (±1.96)	9.56 (±1.96)	8.57 A (±1.05)	8.64 A (±2.18)	11.29 A (±1.72)	10.67 A (±0.34)	10.73 (±1.51)	0.048
	After Challenge	11.42 b (±0.95)	8.43 c (±0.3)	11.61 bB (±1.82)	16.02 aB (±0.79)	17.17 aB (±1.6)	18.04 aB (±1.13)	11.77 b (±1.92)	0.001
Lysozyme	Before Challenge	8.28 (±1.28)	8.28 (±1.28)	7.9 B (±1.84)	9.87 (±0.94)	8.63 (±1.24)	9.45 (±2.27)	10.56 (±2.33)	0.165
	After Challenge	9.10 (±1.18)	9.87 (±2.46)	12.07 A (±1.33)	11.24 (±1.86)	12.17 (±2.39)	11.71 (±2.89)	10.13 (±1.43)	0.220

Standard deviation –values of six replicates before challenge and five after the challenge.

Uppercase letters compare the immune response of fish in the same treatment before and after bacterial challenge stress by T test ($P < 0.05$).

Lowercase letters compare the immune response of fish between treatments before and after bacterial challenge stress by Tukey test ($P < 0.05$).

No bacterial challenge (Negative control): No ginger supplementation and not challenged with bacteria, injected a saline solution (0.9%).

0 GgP (Positive Control): challenged with bacteria and no ginger powder in the diet.

0.25 GgP: Diet supplemented with 0.25 % of ginger powder kg⁻¹ diet; 0.5 GgP: diet supplemented with 0.5 % of ginger powder kg⁻¹ diet; 0.75 GgP: diet supplemented with 0.75% of ginger powder kg⁻¹ diet; 1 GgP: diet supplemented with 1 % of ginger powder kg⁻¹ diet; 1.5 GgP: diet supplemented with 1.5 % of ginger powder kg⁻¹ diet.

Table 8 – Leukocyte, Lymphocytes (Lynf), neutrophil (Neutr) and monocytes (Mon) of Nile tilapia fed diet supplemented with graded levels of ginger powder for 30 days and submitted a bacterial challenge.

		Diets							P value
		No bacterial challenge	0 GgP	0.25 GgP	0.5 GgP	0.75 GgP	1 GgP	1.5 GgP	
Lymphocyte (%)	Before Challenge	94.46 (±1.17)	94.46 (±1.17)	93.25 (±1.48)	93.71 A (±2.74)	91.29 (±2.32)	90.63 A (±2.39)	91.46 (±2.55)	0.26
	After Challenge	94.45 a (±1.84)	93.5 ab (±4.27)	89 ab (±5.15)	85.95 Bbc (±3.19)	90.9 ab (±4.25)	81 Bc (±4.06)	94.8 a (±2.46)	0.006
Neutrophil (%)	Before Challenge	3.66 (±0.81)	3.66 (±0.81)	4.63 (±1.38)	3.83 B (±2.65)	5.08 (±1.39)	6.42 B (±1.66)	5.71 (±2.01)	0.12
	After Challenge	3 c (±2.07)	4.20 bc (±2.62)	7.7 abc (±3.77)	9.35 Aab (±1.92)	5.5 abc (±3.39)	10.2 Aa (±2.39)	3.55 c (±2.33)	0.001
Monocyte (%)	Before Challenge	1.87 (±0.97)	1.87 (±0.97)	2.12 (±0.54)	2.46 B (±1.17)	2.75 (±0.94)	2.96 B (±1.71)	2.83 (±1.08)	0.51
	After Challenge	1.95 b (±0.94)	2.3 b (±1.76)	4.13 b (±1.65)	4.7 Ab (±1.51)	3.6 b (±1.39)	8.80 Aa (±3.27)	2.06 b (±0.92)	0.001
Leukocyte (cell μL^{-1})	Before Challenge	55209 (±10382)	55209 A (±10382)	60626 (±6620)	66063 (±8521)	65871 (±10291)	72611 B (±9971)	81175 A (±14574)	0.026
	After Challenge	58060 b (±6409)	30936 Bc (±6040)	48997 b (±15599)	64283 b (±14339)	61246 b (±4612)	124172 Aa (±11736)	36527 Bc (±17205)	0.001
Lymphocyte (cell μL^{-1})	Before Challenge	52239 b (±10520)	52239 Ab (±10520)	56568 b (±6544)	61957 ab (±8734)	60100 ab (±9368)	65788 Bab (±8984)	74057 Aa (±11887)	0.002
	After Challenge	54885 b (±6692)	28988 Bc (±6125)	43943 bc (±15177)	55601 b (±14261)	55626 b (±4224)	100811 Aa (±13670)	34529 Bbc (±15962)	0.001
Neutrophil (cell μL^{-1})	Before Challenge	1989 b (±414)	1989 b (±414)	2773 ab (±713)	2487 Bab (±1702)	3409 ab (±1236)	4631 Ba (±1285)	4690 Aa (±2108)	0.001
	After Challenge	2083 c (±1250)	1259 c (±755)	3386 bc (±1102)	5798 Ab (±478)	2276 bc (±2116)	12566 Aa (±2731)	1425 Bc (±1499)	0.001
Monocyte (cell μL^{-1})	Before Challenge	875 (±363)	875 (±363)	1284 (±350)	1619 B (±857)	1820 (±670)	2191 B (±1484)	2429 A (±1391)	0.075
	After Challenge	1092 b (±469)	689 b (±484)	2084 b (±1249)	2884 Ab (±664)	2243 b (±984)	10794 Aa (±3701)	716 Bb (±313)	0.001

Standard deviation –values of six replicates before challenge and five after the challenge.

Uppercase letters compare the differential counting of cells of fish in the same treatment before and after bacterial challenge stress by T test ($P < 0.05$).

Lowercase letters compare the differential counting of cells of fish between treatments before and after bacterial challenge stress by Tukey test ($P < 0.05$).

No bacterial challenge (Negative control): No ginger supplementation and not challenged with bacteria, injected a saline solution (0.9%).

0 GgP (Positive Control): challenged with bacteria and no ginger powder in the diet.

0.25 GgP: Diet supplemented with 0.25 % of ginger powder kg^{-1} diet; 0.5 GgP: diet supplemented with 0.5 % of ginger powder kg^{-1} diet; 0.75 GgP: diet supplemented with 0.75% of ginger powder kg^{-1} diet; 1 GgP: diet supplemented with 1 % of ginger powder kg^{-1} diet; 1.5 GgP: diet supplemented with 1.5 % of ginger powder kg^{-1} diet.

Table 9 – Antioxidant enzyme activity of Nile tilapia fed diet supplemented with graded levels of ginger powder for 30 days and submitted a bacterial challenge.

		Diets							P value
		No bacterial challenge	0 GgP	0.25 GgP	0.5 GgP	0.75 GgP	1 GgP	1.5 GgP	
SOD (U/mgpt)	Before Challenge	47.44 (±1.27)	47.44 A (±1.27)	49.67 (±2.45)	49.46 (±4.81)	51.54 (±2.65)	49.81 (±1.84)	50.88 A (±1.73)	0.783
	After Challenge	49.23 ab (±2.41)	45.44 cB (±1.28)	48.36 a (±1.87)	48.72 ab (±1.39)	48.1 a (±2)	50.39 a (±1.70)	44.35 bcB (±2.23)	
CAT (U/mgpt)	Before Challenge	148.28 (±28.31)	148.28 (±28.31)	139.56 (±10.59)	140.77 (±45.47)	139.41 (±15.87)	99.9 (±40.37)	119.8 (±32.43)	0.853
	After Challenge	127.5 (±50.31)	91.25 (±43.95)	97.23 (±33.87)	94.78 (±21.63)	103.41 (±43.88)	120.39 (±17.74)	89.62 (±17.07)	0.902
GPx (U/mgpt)	Before Challenge	135.75 (±33.28)	135.75 (±33.28)	167.65 A (±30.7)	162.36 A (±30.18)	121.22 (±16.40)	168.6 A (±21.76)	161.8 (±22.5)	0.643
	After Challenge	133.61 (±36.33)	93.18 (±38.91)	103.63 B (±16.5)	100.74 B (±27.53)	113.96 (±10.51)	125.9 B (±39)	95.83 (±24.43)	0.079

Standard deviation – values of six replicates before challenge and five after the challenge.

Uppercase letters compare the antioxidant response of fish in the same treatment before and after bacterial challenge stress by a T test ($P < 0.05$).

Lowercase letters compare the antioxidant response of fish between treatments before and after bacterial challenge stress by Tukey test ($P < 0.05$).

SOD, superoxide dismutase; CAT, catalase; GPx, glutathione peroxidase.

No bacterial challenge (Negative control): No ginger supplementation and not challenged with bacteria, injected a saline solution (0.9%).

0 GgP (Positive Control): challenged with bacteria and no ginger powder in the diet.

0.25 GgP: Diet supplemented with 0.25 % of ginger powder kg^{-1} diet; 0.5 GgP: diet supplemented with 0.5 % of ginger powder kg^{-1} diet; 0.75 GgP: diet supplemented with 0.75% of ginger powder kg^{-1} diet; 1 GgP: diet supplemented with 1 % of ginger powder kg^{-1} diet; 1.5 GgP: diet supplemented with 1.5 % of ginger powder kg^{-1} diet.

CAPITULO III

Implicações

Foi possível observar neste estudo as vantagens da utilização de uma raiz comumente encontrada em todos os países na alimentação da tilápia-do-Nilo com efeitos benéficos para o crescimento e saúde desta espécie. Tal rizoma foi utilizado na forma de pó por possuir fácil incorporação na ração animal, menor custo de preparo em relação ao óleo essencial e um custo médio de \$ 2,00 por kg de matéria fresca enquanto os antimicrobianos normalmente utilizados apresentam o custo médio da oxitetraciclina de \$ 150,00 por kg e o florfenicol de \$200,00. O acréscimo deste aditivo favoreceu a ingestão de alimento e beneficiou os parâmetros de desempenho analisado, comportamento este interessante para os produtores, já que em períodos de estresse normalmente encontrados na aquicultura, o animal não se alimenta, não ganha peso atrasando assim o ciclo produtivo, ocupando tanques por períodos mais longos, atrasando o período de despesca e posteriormente, consumindo mais ração já que sua conversão alimentar piora com o tempo, onerando mais a produção e então, tornando a adição do gengibre na ração uma opção viável em tais períodos, podendo evitar tais contratempos.

Além dos benefícios para o desempenho produtivo destacado acima, tal experimento comprovou menor mortalidade dos animais quando desafiados por um agente patogênico que comumente acomete as granjas desta espécie. Resultado Também de grande valia para os produtores e empresas uma vez que os melhores níveis apresentaram sobrevivência 60% maior do que a não inclusão do gengibre e, quando analisados em toneladas de peixes por produtor, a resposta do custo do gengibre frente as perdas que serão evitadas chama a atenção para a utilização deste produto.

O pó de gengibre pode ser considerado um excelente aditivo na alimentação da tilápia-do-Nilo já que beneficiou o desempenho produtivo, a saúde dos animais, evitando a mortalidade e trazendo todas as vantagens de ser um composto fitogênico, que não deixa resíduos no organismo, permitido por lei na alimentação animal, de fácil obtenção, preparo e incorporação na alimentação animal.