

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta tese
será disponibilizado somente a partir
de 28/08/2021.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP

**Avaliação da atividade imunológica,
metabólica e de estresse de pacus
(*Piaractus mesopotamicus*) alimentados
com *Aloe vera* e desafiados com
*Aeromonas hydrophila***

Rudney Weiber Silva de Assis

Jaboticabal, São Paulo
2020

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP

**Avaliação da atividade imunológica,
metabólica e de estresse de pacus
(*Piaractus mesopotamicus*) alimentados
com *Aloe vera* e desafiados com
*Aeromonas hydrophila***

Rudney Weiber Silva de Assis

Orientador: Dra. Elisabeth Criscuolo Urbinati

Tese apresentada ao programa de Pós-graduação em Aquicultura do Centro de Aquicultura da UNESP – CAUNESP, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor.

Jaboticabal, São Paulo
2020

A848a	Assis, Rudney Weiber Silva de Avaliação da atividade imunológica, metabólica e de estresse de pacus (<i>Piaractus mesopotamicus</i>) alimentados com Aloe vera e desafiados com <i>Aeromonas hydrophila</i> / Rudney Weiber Silva de Assis. – Jaboticabal, 2020 88 p. : tabs. Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal Orientadora: Elisabeth Criscuolo Urbinati 1. Aloe vera. 2. resposta imune. 3. plantas medicinais. 4. estresse. 5. metabolismo. I. Título.
-------	---

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

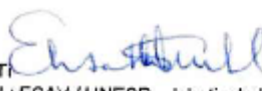
CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: Avaliação da atividade imunológica, metabólica e de estresse de pacus (*Piaractus mesopotamicus*) alimentados com *Aloe vera* e desafiados com *Aeromonas hydrophila*

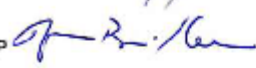
AUTOR: RUDNEY WEIBER SILVA DE ASSIS

ORIENTADORA: ELISABETH CRISCUOLO URBINATI

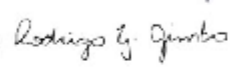
Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em AQUICULTURA, pela Comissão Examinadora:

Profa. Dra. ELISABETH CRISCUOLO URBINATI 
Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal / FCAV / UNESP - Jaboticabal

Prof. Dr. JOÃO BATISTA KOCHENBORGER FERNANDES 
Laboratório de Peixes Ornamentais / Centro de Aquicultura - CAUNESP

Profa. Dra. LAQUELINE DALBELLO BILLER 
Departamento de Zootecnia-FCAT/UNESP / Dracena/SP

Pós-Doutorando EDUARDO PAHOR FILHO 
./ Centro de Aquicultura - CAUNESP

Prof. Dr. RODRIGO YUKIHIRO GIMBO 
./ Universidade Nilton Lins, Manaus-AM

Jaboticabal, 28 de fevereiro de 2020

“...Lembre da minha ordem: Seja forte e corajoso!
Não fique desanimado, nem tenha medo, porque Eu,
o Senhor, seu Deus, estarei com você em qualquer lugar
para onde você for...”

Josué 1:9

Agradecimentos

Não poderia não começar agradecendo ao meu melhor amigo, a quem me sustentou e me encorajou todas as vezes que pensei em desistir, me mostrando que tem um plano para tudo isso. Eu ainda não sei qual é, mas continuo acreditando nele. Ao meu Deus e melhor amigo eu agradeço muito.

A minha família que sempre me apoiou e acreditou em mim e que este dia chegaria. Sem vocês eu nem chegaria perto de estar aqui. Não poderia deixar de agradecer especialmente a minha mãe que desde o início desta jornada esteve me incentivando, acreditando em mim e me patrocinando por todos estes anos. Eu imagino quantas coisas se privou para me ajudar, eu sinceramente quero poder retribuir tudo o que fez por mim. Eu conseguirei!

A minha querida e muito apreciada orientadora, prof^a Elisabeth Urbinati, que me recebeu como um filho em seu laboratório me ensinando tantas coisas que levarei para o resto da vida. Eu a considero como uma mãe. Minha orientadora me ensinou até sem falar uma palavra. Seus ensinamentos acadêmicos e principalmente pessoais irão me acompanhar por toda a vida. Quero poder estar velhinho e contar para todo mundo como foi ser orientado por uma mulher tão humana.

Eu me sinto uma pessoa muito privilegiada por tanta gente boa que conheci neste capítulo da minha vida que é pós-graduação. Fui adotado por algumas famílias que verdadeiramente me acolheram como filho, mas eu não poderia deixar de agradecer por uma família em especial. Minha mãe Marihelp e meu pai Jovem. Eles foram meu suporte quando a vontade de um colo de pais batia forte e eu não tinha. Não consigo não ver a mão de Deus e seu cuidado comigo me dando de presente pessoas tão especiais. Eles estão tatuados em meu coração! É pra sempre, são minha família. Aos meus irmãos Renato e Miriam, por estarem sempre comigo topando me ajudar seja qual for a hora e momento, muito obrigado.

A minha família que me acolheu tão bem, que são todos os meus amigos e irmãos da Igreja Adventista do Sétimo Dia. Vocês fizeram com que meus dias se tornassem bem mais leves ao longo desta caminhada de anos, sorrindo comigo, as vezes chorando, mas sempre orando comigo. Eu me sinto em família verdadeiramente. Guardarei vocês pra sempre no meu coração! Em especial quero agradecer a minha amiga do peito Mariane Macioli que foi sempre minha ajuda incansável, seja lá para o que for. Uma parceria assim quem tem é privilegiado. Agradeço a Deus por sua vida, minha amiga! Obrigado!

A minha amigona Damarinha, por todos estes anos divertidos, de aprendizado e trabalho. Obrigado por ser as vezes mais que amiga, por me defender quando precisava e também me aconselhar! Obrigado por toda a parceria, você mora no meu coração.

A todos os meus amigos que adquiri nesses anos morando em Jaboticabal, vocês me acolheram tão bem e me ensinaram acima de tudo a ser uma pessoa melhor e mais humana. Não posso listar, pois posso esquecer de alguém. Meu muito obrigado a todos vocês!

A todos os meus companheiros de laboratório durante toda a realização do trabalho, pelos longos dias de coletas e análises, mas sempre de muitas risadas. Muito obrigado!

A todos os amigos, funcionários, professores e colegas do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal da FCAV/UNESP pela ajuda e amizade quando precisei.

Aos funcionários do CAUNESP Valdecir e Márcio, que sempre foram tão prestativos em me ajudar. Obrigado por toda a força desde o início! Vocês são muito

especiais! Me fizeram rir e até me deixaram mais conhecido do que desejaria no CAUNESP.

Apoio Financeiro

Ao CNPq, pela concessão da bolsa de estudo.

Sumário

Resumo	10
Abstract	11
CAPÍTULO 1	12
Considerações Gerais	12
1. Panorama da Aquicultura	13
1.2 Sistema Imune de peixes	17
1.3 Alternativas de redução do estresse e manutenção da saúde	19
1.4 Imunoestimulantes	20
1.5 Plantas como imunoestimulantes	21
1.6 Aloe vera	24
1.7 Modelo Biológico	27
2. Objetivos	28
2.1 Geral	28
2.2 Específicos	28
3. Referências Bibliográficas	29
CAPÍTULO 2	45
Physiological activity of Aloe vera in pacu (<i>Piaractus mesopotamicus</i>) inoculated with <i>Aeromonas hydrophila</i>	47
ABSTRACT.....	48
Introduction	48
Material and methods.....	49
Results.....	53
Discussion	54
Conclusions	58
References	58
CAPÍTULO 3	68
Avaliação da atividade imunológica, metabólica e de estresse de pacus (<i>Piaractus mesopotamicus</i>) alimentados com Aloe vera e desafiados com <i>Aeromonas hydrophila</i>	69
Resumo	69
Abstract.....	69
Introdução.....	70
Material e métodos	71
Resultados.....	75
Discussão.....	80
Referências.....	84
CAPÍTULO 4	88
Considerações finais	89

Resumo

A presente tese de Doutorado compreende dois experimentos e é apresentado em quatro capítulos. No primeiro, apresentamos uma introdução geral sobre o tema da tese e no último as considerações finais. Os capítulos que compõem o restante da tese foram escritos como artigos científicos. No primeiro experimento, capítulo 2, foi avaliada a resposta imune inata, de estresse e metabólica de juvenis de pacu alimentados com diferentes concentrações de extrato de *Aloe vera* (0,0%; 0,5%; 1,0% e 2,0%), durante 7 dias. Depois da alimentação, os peixes foram inoculados através de injeção intraperitoneal (IP) de *Aeromonas hydrophila* inativada. Os peixes foram amostrados antes, 3h, 6 h e 24 h após o desafio. Os resultados mostraram que todas as concentrações de *A. vera* reduziram os níveis basais de cortisol e que, 3 h após a inoculação bactéria, os menores valores de cortisol foram observados nos peixes alimentados com 1,0% do extrato. Após 7 dias de alimentação, em condição basal, a *A. vera* promoveu os valores mais elevados de atividade respiratória dos leucócitos circulantes (ARL) nos peixes alimentados com 0,5% e 1,0% do extrato da planta. Os níveis séricos de lisozima aumentaram seis horas após a inoculação bacteriana em peixes alimentados com 1,0% e 2,0% de *A. vera*. O sistema complemento foi ativado nos peixes que receberam 1% de extrato da planta em todas as amostragens após a inoculação da bactéria. A alimentação por 7 dias com 1,0% de *Aloe vera* aumentou os níveis lipídicos no fígado e músculo. O segundo experimento, capítulo 3, avaliou a inclusão de *A. vera* na dieta (0,0%;0,5%;1,0% e 2,0%) por um período de alimentação de 15 dias seguida por desafio dos peixes com injeção IP de *A. hydrophila* inativada. Os peixes foram amostrados antes, 3, 6 e 24 horas após o desafio. Os dados deste experimento compõem o capítulo 3. Os resultados mostraram elevação do cortisol circulante causado pelo inóculo, em todos os tratamentos, e confirmaram o efeito redutor dos níveis de cortisol da *A. vera*, observado nas condições experimentais deste experimento, 3 horas após o inóculo. Observamos elevação das concentrações plasmáticas de glicose 3 h após inoculação da bactéria e redução maior que do grupo controle nos peixes que receberam o extrato de *A. vera*. As concentrações da lisozima sérica de peixes controle aumentaram 3 h após inoculação e se mantiveram até 24 h. Nos peixes que receberam extrato de *A. vera* esse aumento foi inibido às 3 h, mas se elevaram a partir de 6 h, sendo o valor mais alto observado nos peixes que receberam 2,0% do extrato, 24 h após inoculação. Observamos, ainda, efeito do extrato de *A. vera* que aumentou a quantidade de lipídeo no músculo e depósito visceral. Em conjunto, os dados apresentados nesta tese indicam que o extrato de *A. vera* tem ações redutora de estresse, imunostimulante e lipogênica em juvenis de pacu, com pequena variação no tempo de detecção de seus efeitos quando a alimentação é oferecida por 7 ou 15 dias. Isto nos permite sugerir o uso desta planta como suplemento na alimentação do pacu como protocolo alternativo para reforçar e melhorar os mecanismos de defesa imune, reduzir surtos de doenças e aumentar a resistência dos peixes, ou em períodos em que o peixe necessita poupar os estoques de energia, sem prejuízos para o peixe, para o consumidor e para o meio ambiente.

Palavras-chave: *Aloe vera*, resposta imune, plantas medicinais, estresse, metabolismo

Abstract

This Doctoral thesis comprises two experiments and is presented in four chapters. In the first, we present a general introduction on the topic of the thesis and in the last, the final considerations. The chapters that make up the rest of the thesis were written as scientific articles. In the first experiment, chapter 2, the innate, stress and metabolic responses of pacu juveniles fed different concentrations of *Aloe vera* extract (0.0%; 0.5%; 1.0% and 2.0%) were evaluated, for 7 days. After feeding, the fish were inoculated by intraperitoneal (IP) injection of inactivated *Aeromonas hydrophila*. The fish were sampled before, 3h, 6h and 24h after the challenge. The results showed that all concentrations of *A. vera* reduced baseline levels of cortisol and that, 3 h after bacterial inoculation, the lowest values of cortisol were observed in fish fed 1.0% of the extract. After 7 days of feeding, in basal condition, *A. vera* promoted the highest values of respiratory activity of circulating leukocytes (ARL) in fish fed with 0.5% and 1.0% of the plant extract. Serum lysozyme levels increased six hours after bacterial inoculation in fish fed 1.0% and 2.0% *A. vera*. The complement system was activated in fish that received 1% of plant extract in all samples after inoculation of the bacteria. Feeding for 7 days with 1.0% *Aloe vera* increased lipid levels in the liver and muscle. The second experiment, chapter 3, evaluated the inclusion of *A. vera* in the diet (0.0%; 0.5%; 1.0% and 2.0%) for a 15-day feeding period followed by a fish challenge with IP injection of inactivated *A. hydrophila*. The fish were sampled before, 3, 6 and 24 hours after the challenge. The data from this experiment comprise chapter 3. The results showed an increase in the circulating cortisol caused by the inoculum, in all treatments, except in fish fed with 2% *A. vera*, confirmed the reducing effect of the extract on cortisol levels, observed in the experimental conditions of this experiment. We observed elevation of glucose plasma concentrations, with a reduction 6 h after bacterial inoculation, more intensely in fish fed with the extract. The serum lysozyme concentrations of control fish increased 3 h after inoculation and were maintained up to 24 h. In fish that received *A. vera* extract, this increase was inhibited at 3 h, but increased after 6 h, the highest value being observed in fish that received 2.0% of the extract, 24 h after inoculation. We also observed an effect of *A. vera* extract that increased the amount of lipid in the muscle and visceral deposit. Taken together, the data presented in this thesis indicate that *A. vera* extract has stress-reducing, immunostimulating and lipogenic actions in pacu juveniles, with little variation in the time of detection of its effects when feeding is offered for 7 or 15 days. This allows us to suggest the use of this plant as a supplement in pacu feeding as an alternative protocol to reinforce and improve immune defense mechanisms, reduce disease outbreaks and increase fish resistance, or in periods when the fish needs to preserve their energy reserves, without impairment to fish health, to the consumer and to the environment.

Keywords: *Aloe vera*, immune response, medicinal plants, stress, metabolism

Email de submissão do artigo

Re: "Physiological activity of *Aloe vera* in pacu (*Piaractus mesopotamicus*) inoculated with *Aeromonas hydrophila*"

Full author list: Rudney Weiber Silva Assis; Elisabeth Urbinati, Ph.D

Dear MSc Assis,

We have received the submission entitled: "Physiological activity of *Aloe vera* in pacu (*Piaractus mesopotamicus*) inoculated with *Aeromonas hydrophila*" for possible publication in Fish Physiology and Biochemistry, and you are listed as one of the co-authors.

The manuscript has been submitted to the journal by Dr. Prof Elisabeth Urbinati who will be able to track the status of the paper through his/her login.

If you have any objections, please contact the editorial office as soon as possible. If we do not hear back from you, we will assume you agree with your co-authorship.

Thank you very much.

With kind regards,

Springer Journals Editorial Office
Fish Physiology and Biochemistry

The screenshot shows the Editorial Manager interface for the journal Fish Physiology and Biochemistry. The user is logged in as Elisabeth Urbinati. The page displays a table of submissions being processed for the author. The table has columns for Action, Manuscript Number, Title, Initial Date Submitted, Status Date, and Current Status. One submission is listed with manuscript number FISH-D-19-00444, titled 'Physiological activity of Aloe vera in pacu (Piaractus mesopotamicus) inoculated with Aeromonas hydrophila', submitted on 19 Nov 2019, with a status date of 01 Jan 2020, and currently 'Under review'. The page also includes navigation links, a main menu, and a footer with the Springer logo.

editorialmanager.com/fish/default.aspx

Apps Unesp - Universida... UNESP: Câmpus de... CAUNESP - Universi... UOL - O melhor co... Geral - Portal CNPq Facebook FAPESP :: Fundação... Google Tradutor

FISH PHYSIOLOGY AND BIOCHEMISTRY

HOME • LOGOUT • HELP • REGISTER • UPDATE MY INFORMATION • JOURNAL OVERVIEW
MAIN MENU • CONTACT US • SUBMIT A MANUSCRIPT • INSTRUCTIONS FOR AUTHORS • PRIVACY

Editorial Manager
Role: Author Username: elisabethurbinati

Submissions Being Processed for Author Elisabeth Urbinati, Ph.D

Page: 1 of 1 (2 total submissions) Display 10 results per page.

Action	Manuscript Number	Title	Initial Date Submitted	Status Date	Current Status
Action Links	FISH-D-19-00444	Physiological activity of Aloe vera in pacu (<i>Piaractus mesopotamicus</i>) inoculated with <i>Aeromonas hydrophila</i>	19 Nov 2019	01 Jan 2020	Under review

Page: 1 of 1 (2 total submissions) Display 10 results per page.

<< Author Main Menu

**Physiological activity of *Aloe vera* in pacu (*Piaractus mesopotamicus*) inoculated
with *Aeromonas hydrophila***

Rudney Weiber Silva de Assis^a, Elisabeth Criscuolo Urbinati^{a,b,*}

^aUniversidade Estadual Paulista UNESP – Centro de Aquicultura, Campus de Jaboticabal, Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castelane, S/N, Jaboticabal, São Paulo, 14884-900, Brasil

^bUniversidade Estadual Paulista UNESP – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Campus de Jaboticabal, Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castelane, S/N, Jaboticabal, São Paulo, 14884-900, Brasil

^{a,b,*}elisabeth.criscuolo-urbinati@unesp.br (orcid.org/0000-0001-6623-8095)

*Corresponding author: Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castelane, S/N, Jaboticabal, São Paulo, 14884-900, Brasil.

Acknowledgements We thank the Centro de Aquicultura da UNESP (CAUNESP) for supplying the fish for the research and the Laboratório de Microbiologia e Parasitologia de Organismos Aquáticos for supplying the bacteria inoculum.

Author contributions All authors contributed to the design of the experiment. The experimental series were conducted by R.W.S.A and supervised by E.C.U. Assays and data analysis were performed by R.W.S.A. with help from E.C.U. The manuscript was written by both authors.

Funding The present research has been granted by the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) [process number: 142171/2016-6].

Introduction

Aquaculture is increasing worldwide (FAO 2014); however, fish rearing involves many challenges. One of the biggest problems is the outbreak of diseases caused by environmental pathogens and the consequent financial implications for the industry. To control disease outbreaks, several antimicrobial and other drugs have been used indiscriminately. The major concerns with treating fish with antimicrobials are the potential impacts on the aquatic environment and the risks associated with the development of antimicrobial resistance by fish pathogens (WHO 2016; Miranda et al. 2018). Due to the risks involved with the intense use of antibiotics, it is necessary to intensify efforts to develop alternative, and more ecofriendly, treatments.

Immunostimulants are considered an alternative for antibiotics to boost the immunity of fish, thus effectively combating the pathogens.

Recent reviews have emphasized the use of herbs as an emerging approach to enhance the health and immune system of cultured fish, which may have substantial benefits for the aquaculture industry (Galina et al 2009; Citarasu 2010; Harikrishnan et al 2011; Bairwa et al 2012; Vaseeharan and Thaya 2014; Reverter et al 2014; Hai 2015; Bulfon et al 2015; Awad and Awaad 2017; Wang et al 2017). Herb-derived products are a promising source of bioactive molecules, being simultaneously easily available, inexpensive, and more biodegradable in nature compared to synthetic drugs.

Aloe vera (*Aloe barbadensis* Miller) is a traditional medicinal plant belonging to the family Aloaceae (WHO 1999) and has been reported to provide numerous benefits to human health, including anticancer, antioxidant, antimicrobial, antiallergic, anti-inflammatory, immunomodulatory, hepatoprotective, antiulcer, and antidiabetic activities (Hamman 2008; Rajeswari et al 2014; Sánchez-Machado et al 2017). Although the use

of *A. vera* in aquaculture has increased in recent years (Kim et al 1999; Alishahi et al. 2010; Farahi et al 2012; Zanuzzo et al 2012; Mahdavi et al 2013; Palermo et al 2013; Haghighi et al 2014; Dotta et al 2014; Gabriel et al 2015a, b; Zanuzzo et al 2015a, b; Zanuzzo et al 2017; Alishahi et al 2017; Moghaddam et al 2017; Rohani et al 2017; Gabriel et al 2019; Mehrabi et al 2019), the biological properties of this plant that can aid in fish farming have to be clearly defined so that effective new products can be developed. Given the potential benefits of *A. vera* to physiological responses of pacu, our purpose was to evaluate whether feeding fish with diets supplemented with plant extract for 7 days would affect indicators of stress, innate immunity, and metabolism before and after inoculation with heat killed *Aeromonas hydrophila*. Our model fish is commercially valuable in South America and is farmed in aquaculture systems (Valladão et al 2018), and has been affected by outbreaks of mortality caused by bacterial infection under intensive farming (Ferreira et al 2019).

Conclusions

Based on our data, this study suggests that *Aloe vera*, mainly as a 1% extract, can be used as a fish feed supplement to reduce stress response and improve innate immunity. In addition, *A. vera* modulates the dynamics of lipid reserves, directing the energy mobilization to visceral depots. The use of *A. vera* in aquaculture is promising; however, the scarcity of data indicates that further studies focusing on the effective use of *A. vera* as a feed supplement are needed. The immunomodulator effect of the herbal extract seems clear; however, new experimental protocols will have to be developed, and biochemical details of its action on physiological functions must be systematically investigated.

References

- Agius C, Roberts RJ (2003) Melano-macrophage centres and their role in fish pathology. J. Fish Dis 26:499-509
- Ahlawat KS, Khatkar BS (2011) Processing, food applications and safety of *aloe vera* products: A review. J Food Sci Technol 48:525-533
- Alinejad-Mofrad S, Foadoddini M, Saadatjoo SA, Shayesteh M (2015) Improvement of glucose and lipid profile status with *Aloe vera* in pre-diabetic subjects: a randomized controlled-trial. J Diab Met Dis 14:22
- Alishahi M, Ranjbar MM, Ghorbanpour M, Peyghan R, Mesbah M, Razijalali M (2010) Effects of dietary *Aloe vera* on some specific and nonspecific immunity in the common carp (*Cyprinus carpio*). Int J Vet Res 4 189-195.
- Alishahi M, Dezfuly ZT, Mohammadian T, Mesbah M (2017) Effects of *Aloe Vera* crude extract on growth performance and some hemato-immunological indices of *Oncorhynchus mykiss* in farm scale. Iranian J Vet Med 10:383-394
- Anderson DP, Siwicki AK (1995) Basic haematology and serology for fish health programs, Diseases in Asian Aquaculture II, Manila: Fish Health Section, Asian Fisheries Society 185-202
- Awad E, Awaad (2017) A Role of medicinal plants on growth performance and immune status in fish. Fish Shellfish Immunol 67:40-54

- Baltzegar DA, Reading BJ, Douros JD, Borski RJ (2014) Role for leptin in promoting glucose mobilization during acute hyperosmotic stress in teleost fishes. *J Endocrinol* 220:61–72
- Bairwa MK, Jakhar J, Reddy AD (2012) Animal and plant originated immunostimulants used in aquaculture. *J Nat Prod Plant Resour* 2:397–400
- Biller-Takahashi JD, Takahashi LS, Saita MV, Gimbo RY, Urbinati EC (2013) Leucocytes respiratory burst activity as indicator of innate immunity of pacu *Piaractus mesopotamicus*. *Braz J Biol* 73:425–429
- Boshra H, Li J, Sunyer JO (2006) Recent advances on the complement system of teleost fish. *Fish Shellfish Immunol* 20:239–262
- Bulfon C, Volpatti D, Galeotti M (2015) Current research on the use of plant-derived products in farmed fish. *Aquacul Res* 46:513–551
- Choudhary M, Kochhar A, Sangha J (2014) Hypoglycemic and hypolipidemic effect of *Aloe vera* L. in non-insulin dependent diabetics. *J Food Sci Technol* 51:90–96
- Citarasu G (2010) Herbal biomedicines: a new opportunity for aquaculture industry. *Aquacult Int* 18:403–414
- Demers NE, Bayne CJ (1997) The immediate effects of stress on hormones and plasma lysozyme in rainbow trout. *Dev Comp Immunol* 21:363–373
- Dotta G, Andrade JIA, Gonçalves ILT, Brum A, Mattos JJ, Maraschin M, Martins ML (2014) Leukocyte phagocytosis and lysozyme activity in Nile tilapia fed supplemented diet with natural extracts of propolis and *Aloe barbadensis*. *Fish Shellfish Immunol* 39:280–284
- FAO (2014) The State of World Fisheries and Aquaculture. Available at: <http://www.fao.org/3/a-i3720e.pdf>
- Farahi A, Kasiri M, Sudagar M, Soleimani IM, Zorriehzahra SMJ (2012) Effect of dietary supplementation of *Melisa officinalis* and *Aloe vera* on haematological traits, lipid oxidation of carcass and performance in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Online *J Anim Feed Res* 1:1–5
- Ferreira MW, Santos RM, Silva AR, Marino ED, Makimoto SS, Barbosa GRC, Andrade GB (2019) Mortality in Pacus (*Piaractus mesopotamicus*) caused by *Pantoea agglomerans* and *Pseudomonas aeruginosa* in Excavated Tank. *Acta Scientiae Veter.* 47:379

- Ferriani VPL, Barbosa JE, Carvalho IF (1990) Serum hemolytic classical and alternative pathways of complement in infancy - age-related-changes. *Acta Paediatr Scand* 79:322–327
- Folch J, Less M, Stanley GH (1957) A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J Biol Chem* 226:497-503
- Frings CS, Fendly TW, Dunn RT, Quenn CA (1972) Improved determination of total lipids by the sulpho-phospho-vanilin reaction. *Clin Chem* 18:673-674
- Gabriel NN, Qiang J, Ma XY, He J, Xu P, Liu K (2015a) Dietary *Aloe vera* improves plasma lipid profile, antioxidant, and hepatoprotective enzyme activities in GIFT-tilapia (*Oreochromis niloticus*) after *Streptococcus iniae* challenge. *Fish Physiol Biochem* 41:1321–1332
- Gabriel NN, Qiang J, He J, Ma XY, Kpundeh MD, Xu P (2015b) Dietary *Aloe vera* supplementation on growth performance, some haemato-biochemical parameters and disease resistance against *Streptococcus iniae* in tilapia (GIFT). *Fish Shellfish Immunol* 44: 504-514
- Gabriel NN, Wilhelm MR, Habte-Tsion H-M, Chimwamurombe P, Omoregie E, Iipinge LN, Shimooshili K (2019) Effect of dietary *Aloe vera* polysaccharides supplementation on growth performance, feed utilization, hemato-biochemical parameters, and survival at low pH in African catfish (*Clarias gariepinus*) fingerlings. *Int Aquat Res* 11:57–72
- Galina J, Yin G, Ardó L, Jeney Z (2009) The use of immunostimulating herbs in fish. An overview of research. *Fish Physiol Biochem* 35:669–676
- Garcia-Abiado MA, Mbahinzireki G, Rinchard J, Lee KJ, Dabrowski K (2004) Effect of diets containing gossypol on blood parameters and spleen structure in tilapia, *Oreochromis* sp., reared in a recirculating system. *J Fish Dis* 27:359-368
- Gogal RM, Smith BJ, Robertson JL, Smith SA, Holladay SD (1999) Tilapia (*Oreochromis niloticus*) dosed with azathioprine display immune effects similar to those seen in mammals, including apoptosis. *Vet Immunol Immunopathol* 68:209-227
- Haghighi M, Rohani MS, Samadi M, Tavoli M, Eslami M, Yusefi R (2014) Study of effects *Aloe vera* extract supplemented feed on hematological and immunological indices of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Int J Adv Biol Biomed Res* 2:2143-2154.
- Hai NV (2015) The use of medicinal plants as immunostimulants in aquaculture: A review. *Aquaculture* 446:88–96

- Hamman JH (2008) Composition and applications of *Aloe vera* leaf gel. *Molecules* 13:1599–1616
- Rajeswari R, Umadevi M, Rahale CS, Pushpa R, Selvavenkadesh S, Kumar KPS, Bhowmik D (2014) *Aloe vera*: The Miracle Plant Its Medicinal and Traditional Uses in India. *J Pharmacogn Phytochem* 1:118-124
- Harikrishnan R, Balasundaram C, Heo M-S (2011) Impact of plant products on innate and adaptive immune system of cultured finfish and shellfish. *Aquaculture* 317:1–15
- Havixbeck JJ, Barreda DR (2015) Neutrophil development, migration, and function in teleost fish. *Biology* 4:715-734
- Im SA, Oh ST, Song S, Kim MR, Kim DS, Woo SS, Jo TH, Park YI, Lee CK (2005) Identification of optimal molecular size of modified *Aloe* polysaccharides with maximum immunomodulatory activity. *Int Immunopharmacol* 5:271-279
- Kim KH, Hwang YJ, Bai SC (1999) Resistance to *Vibrio alginolyticus* in juvenile rockfish *Sebastes schlegeli* / fed diets containing different doses of aloe. *Aquaculture* 180:13–21
- Lieke T, Meinelt T, Hoseinifar SH, Pan B, Straus DL, Steinberg CEW (2019) Sustainable aquaculture requires environmental-friendly treatment strategies for fish diseases. *Rev Aquac* 1–23
- Mahdavi M, Hajimoradloo A, Ghorbani R (2013) Effect of *Aloe vera* Extract on Growth Parameters of Common Carp (*Cyprinus carpio*). *World J Medical Sci* 9:55-60
- Mehrabi Z, Firouzbakhsh F, Rahimi-Mianji G, Paknejad H (2019) Immunostimulatory effect of *Aloe vera* (*Aloe barbadensis*) on non-specific immune response, immune gene expression, and experimental challenge with *Saprolegnia parasitica* in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 503: 330–338
- Miranda CD, Godoy FA, Lee MR (2018) Current Status of the Use of Antibiotics and the Antimicrobial Resistance in the Chilean Salmon Farms. *Front Microbiol* 9:1284
- Moghaddam SB, Haghighi M, Rohani MS, Hamidi M, Ghasemi M (2017) The effects of different levels of *Aloe vera* extract on some of the hematological and non-specific immune parameters in Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*), *Iranian J Fish. Sci* 16:1234-1247
- Nguyen GT, Green ER, Mecas J (2017) Neutrophils to the ROScues: mechanisms of NADPH oxidase activation and bacterial resistance. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* 7:373

- Palermo FA, Cocci P, Angeletti M, Felici A, Polzonetti-Magni AM, Mosconi G (2013) Dietary *Aloe vera* components' effects on cholesterol lowering and estrogenic responses in juvenile goldfish, *Carassius auratus*. *Fish Physiol Biochem* 39:851–861
- Parrish CC (1999) Determination of Total Lipid, Lipid Classes, and Fatty Acids in Aquatic Samples, in *Lipids in Freshwater Ecosystems*. Springer, New York, pp.4-20
- Perry SF, Walsh PJ, Mommsen TP, Moon TW (1988) Metabolic consequences of hypercapnia in the rainbow trout *Salmo gairdneri*: β -adrenergic effects. *Gen Comp Endocrinol* 69:439-447
- Polhill RB, Pruitt KM, Johnston RB (1978) Kinetic assessment of alternative complement pathway activity in a hemolytic system, 1. Experimental and mathematical analyses. *J Immunol* 121:363–370
- Pothuraju R, Sharma RK, Onteru SK, Shaik SS, Hussain A (2016) Hypoglycemic and Hypolipidemic Effects of *Aloe vera* Extract Preparations: A Review. *Phytother Res* 30:200–207
- Rajasekaran R, Ravi K, Sivagnanam K, Subramanian S (2006) Beneficial effects of aloe vera leaf gel extract on lipid profile status in rats with streptozotocin diabetes. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 33:232–237
- Reverter M, Bontemps N, Lecchini D, Banaigs B, Sasal P (2014) Use of plant extracts in fish aquaculture as an alternative to chemotherapy: Current status and future perspectives. *Aquaculture* 433:50–61
- Rohani MS, Haghighi M, Moghaddam SB (2017) Study on nanoparticles of *Aloe vera* extract on growth performance, survival rate and body composition in Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*), *Iranian J Fish. Sci* 16:457-468
- Sánchez-Machado DI, López-Cervantes J, Sendón R, Sanches-Silva A (2017) *Aloe vera*: Ancient knowledge with new frontiers. *Trends in Food Science and Technology* 61:94-102
- Saurabh S, Sahoo PK (2008) Lysozyme: an important defence molecule of fish innate immune system. *Aquacult Res* 39:223-239
- Sebastião FA, Furlan LR, Hashimoto DT, Pilarski F (2015) Identification of bacterial fish pathogens in Brazil by direct colony PCR and 16S rRNA gene sequencing. *Adv Microbiol* 5:409-424
- Sheridan MA (1994) Regulation of lipid metabolism in poikilothermic vertebrates. *J Comp Biochem Physiol B* 107:495-508

- Valladão GMR, Gallani SU, Pilarski F (2016) South American fish for continental aquaculture. *Rev Aquac* 10:351–369
- WHO, World Health Organization (1999) WHO Monographs on selected medicinal plants, vol. 1. Geneva: WHO Publications.
- Vaseeharan B, Thaya R (2014) Medicinal plant derivatives as immunostimulants: an alternative to chemotherapeutics and antibiotics in aquaculture. *Aquacult Int* 22: 1079–1091
- WHO World Health Organization (2016) Global Principles for the Containment of Antimicrobial Resistance in Animals Intended for Food: Report of a WHO Consultation with the Participation of the Food and Agriculture Organization of the United Nations and the Office International des Epizooties. Geneva: World Health Organization; Available at: <http://www.who.int/foodsafety/publications/containment-amr/en/> (accessed 13 Sep 2019).
- Wang W, Sun J, Liu C, Xue Z (2017) Application of immunostimulants in aquaculture: current knowledge and future perspectives. *Aquacult Res* 48:1–23
- Yada T, Tort L (2016) Stress and disease resistance: immune system and immunoendocrine interactions, *Fish Physiology - Biology of Stress in Fish*. 35:365–403
- Zanuzzo FS, Biller-Takahashi JD, Urbinati EC (2012) *Aloe vera* improves the respiratory activity of leukocytes of matrinxã (*Brycon amazonicus*) during the transport stress. *Rev Bras Zootec* 41:2299-2302
- Zanuzzo FS, Urbinati EC, Rise ML, Hall JR, Nash GW, Gamperl AK (2015a) *Aeromonas salmonicida* induced immune gene expression in *Aloe vera* fed steelhead trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Aquaculture* 435:1–9
- Zanuzzo FS, Zaiden SF, Senhorini JA, Marzocchi-Machado CM, Urbinati EC (2015b) *Aloe vera* bath improved physical and humoral protection in breeding stock of matrinxã (*Brycon amazonicus*) after induced spawning. *Fish Shellfish Immunol* 45:132-140
- Zanuzzo FS, Sabioni RE, Montoya LNF, Favero G, Urbinati EC (2017) *Aloe vera* enhances the innate immune response of pacu (*Piaractus mesopotamicus*) after transport stress and combined heat killed *Aeromonas hydrophila* infection. *Fish Shellfish Immunol* 65:198–205