

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 25/07/2025.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP

**Efeito protetivo e estímulo no crescimento de
tilápias do Nilo suplementadas com óleo de
copaíba e extrato de própolis.**

Janaina Graça de Oliveira Carvalho

Jaboticabal, São Paulo

2024

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP

**Efeito protetivo e estímulo no crescimento de
tilápias do Nilo suplementadas com óleo de
copaíba e extrato de própolis.**

Janaina Graça de Oliveira Carvalho

Orientadora: Dra. Julieta Rodini Engrácia de Moraes

Coorientador: Gustavo da Silva Claudiano

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

Jaboticabal, São Paulo

2024

C331e Carvalho, Janaina Graça de Oliveira
Efeito protetivo e estímulo no crescimento de tilápias do Nilo suplementadas com óleo de copaiba e extrato de própolis. / Janaina Graça de Oliveira Carvalho. -- Jaboticabal, 2024
55 p. : il., tabs., fotos

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Centro de Aquicultura da Unesp, Jaboticabal
Orientadora: Julieta Rodini Engracia de Moraes
Coorientador: Gustavo da Silva Claudiano

1. Rações Aditivos. 2. Imunologia. 3. Bem estar animal. 4. Desenvolvimento Sustentável. 5. Fitoterapia. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Dados fornecidos pelo autor(a).

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: Resposta imuno-protetiva e performance de crescimento em tilápias do Nilo suplementadas com óleo de copaíba e própolis.

AUTORA: JANAINA GRAÇA DE OLIVEIRA CARVALHO

ORIENTADORA: JULIETA RODINI ENGRACIA DE MORAES

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em Ciências, pela Comissão Examinadora:

Profa. Dra. JULIETA RODINI ENGRACIA DE MORAES (Participação Virtual),
Departamento de Patologia Veterinária / FCAV UNESP, Jaboticabal-SP

Pós-Doutorando JEFFERSON YUNIS AGUINAGA (Participação Virtual)
Instituto del Mar del Perú, / UCSur, Paracas/ Perú



Assinado de forma digital por João Batista Kochenberger Fernandes;2662186000
Dados: 2024.09.20 14:57:51 -03'00'

Prof. Dr. JOÃO BATISTA KOCHENBERGER FERNANDES (Participação Virtual)
Laboratório de Peixes Ornamentais / Centro de Aquicultura da UNESP, CAUNESP, Jaboticabal-SP

Documento assinado digitalmente
JULIETA RODINI ENGRACIA DE MORAES
Data: 01/10/2024 11:48:24 -0300
Verifique em <https://validar.f.gov.br>



Jaboticabal, 25 de julho de 2024

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS	6
APOIO FINANCEIRO.....	8
LISTA DE FIGURAS.....	9
LISTA DE TABELAS.....	10
INTRODUÇÃO	13
OBJETIVOS	21
MATERIAL E MÉTODOS	22
Peixes e condições experimentais.....	22
Delineamento experimental	23
Sobrevivência após infecção por <i>Streptococcus agalactiae</i>	26
Hematologia.....	27
Atividade respiratória de leucócitos no sangue (Burst respiratório)	28
Concentração de lisozima.....	28
Avaliação do sistema complemento: atividade hemolítica	30
Histologia e Histopatologia	31
Análises estatísticas	32
RESULTADOS E DISCUSSÃO	33
CONCLUSÃO	3
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	4

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus e a Nossa Senhora das Graças, que nunca me abandonaram durante a minha vida toda e, em especial, durante o mestrado. Sua proteção e bênçãos me deram força e coragem para seguir em frente, mesmo nos momentos mais desafiadores.

Aos meus queridos pais, Maria Bernadete e Luiz Carlos, meu agradecimento mais profundo. Sua dedicação, amor e apoio incondicional foram essenciais para todas as minhas conquistas. Agradeço a Deus todos os dias por ser filha de vocês. Sem o exemplo de coragem e perseverança que vocês me deram, eu não teria chegado até aqui. Este trabalho é, também, uma homenagem a vocês.

Agradeço também à minha orientadora, Julieta Rodini Engrácia de Moraes, por sua orientação, paciência e suporte ao longo de todo este processo. Sua sabedoria e dedicação foram essenciais para a concretização deste trabalho. Sou imensamente grata por ter tido a oportunidade de aprender e crescer sob sua orientação. Além das loucuras e risadas altas em sua sala, seu companheirismo foi essencial durante o percurso deste mestrado. E não pense que vai se livrar tão fácil de mim, o doutorado está logo aí.

Ao meu coorientador, Gustavo Claudiano, deixo minha mais sincera gratidão. Sua coorientação, conhecimento e paciência foram de extrema importância para o desenvolvimento deste trabalho. Agradeço por todas as orientações, conselhos e pela dedicação em me ajudar a alcançar meus objetivos. Seu apoio e os “cinco minutinhos” que eu te pedia, que na verdade foram várias horas, de atenção foram cruciais para a execução do experimento, análises dos dados, enfim, tudo.

Gostaria de expressar minha profunda gratidão a todos que, de alguma forma, contribuíram para a realização desta dissertação.

Aos meus amigos do Caunesp, Ana Luiza Lima Rocha, Deborah Jacob, Douglas Graciano, Thaise Mota, Magdiel Oliveira, Vinicius Galante, Tomaz Ayres, Raphael Santucci e Thais Oliveira, meu sincero agradecimento. Cada um de vocês, com sua amizade e apoio, tornou esta jornada mais leve e agradável. Agradeço por estarem sempre presentes, pelas palavras de incentivo, pelos momentos de descontração no Skina Bar e por compartilharem essa trajetória comigo. A amizade de vocês, e a GRANDE ajuda em todas as coletas, foram pilares essenciais para a solidificação deste trabalho.

Em especial, agradeço ao meu amigo, e irmão siamês, Hugo Leandro dos Santos pelos momentos de descontração e pela ajuda infinita durante todo o meu experimento. Sua companhia e apoio foram fundamentais para que eu pudesse superar os desafios ao longo desta jornada. Sem você, Hugo, este trabalho teria sido muito mais difícil.

**Dedico esta dissertação aos meus pais,
Maria Bernadete e Luiz Carlos, que, sob muito
sol, fizeram-me chegar até aqui, na sombra.**

APOIO FINANCEIRO

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Processo 88887.705547/2022-00.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Exemplar de Tilápia do Nilo. Fonte: Global Sea Food.....	13
Figura 2. Processo de extração do óleo resina + óleo essencial de copaíba de <i>Copaifera duckeii</i>	15
Figura 3. Aspecto visual do própolis (resina).....	17
Figura 4. Local do experimento: Centro de Pesquisa em Sanidade Animal (CPPAR). Biotério Experimental "Flavio Ruas de Moraes"	22
Figura 5. Resposta in vitro de <i>Aeromonas hydrophila</i> (A) e <i>Streptococcus agalactiae</i> (B). Controles positivo e negativo	34
Figura 6. Peso final entre os grupos ao final do período experimental.	1
Figura 7. Índices hematimétricos de tilápias do Nilo alimentadas com ração suplementada com óleo de copaíba e própolis.....	3
Figura 8. Atividade respiratória de leucócitos, burst respiratório aos 60 dias de experimento.	5
Figura 9. Porcentagem de morte acumulada em tilápias do Nilo desafiadas com <i>Streptococcus agalactiae</i> após suplementação com óleo de copaíba e própolis....	6
Figura 10. Histopatologia de fígados de tilápias suplementadas com óleo de copaíba e extrato de própolis, isolados e em associação. (Coloração: Hematoxilina-Eosina).....	8
Figura 11. Histopatologia de fígados de tilápias suplementadas com óleo de copaíba e extrato de própolis, isolados e em associação. (Coloração: Acido Periódico de Schiff - Hematoxilina)	9
Figura 12. Fragmentos de intestinos de tilápias do Nilo suplementadas com óleo de copaíba e extrato de própolis. Azul Alcian. (Coloração: Alcian Blue pH 2,5)	2

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Parâmetros físico-químicos de qualidade de água durante o período experimental de Tilápias do Nilo suplementadas com óleo de copaíba e própolis.	33
Tabela 2. Classificação da atividade bactericida do óleo de copaíba e própolis in vitro.	34
Tabela 3. Média \pm desvio padrão para desempenho zootécnico de juvenis de tilápia <i>Oreochromis niloticus</i> submetido a suplementação dietética com óleo de copaíba e própolis por 12 semanas.....	1
Tabela 4. Valores médios das características hematológicas de <i>Oreochromis niloticus</i> alimentadas com ração aditiva de óleo de copaíba e própolis.	2
Tabela 5. Distribuição percentual das células de defesa orgânica de valores médios das características hematológicas de <i>Oreochromis niloticus</i> alimentadas com ração aditiva de óleo de copaíba e própolis.	3
Tabela 6. Análise de atividade respiratória de leucócitos em 9 e 12 semanas.....	4
Tabela 7. Histomorfometria intestinal de tilápias do Nilo suplementadas com óleo de copaíba e própolis por 9 e 12 semanas.	1

RESUMO

O óleo de copaíba e o própolis são compostos orgânicos de conhecida ação imunoestimulante em tilápias-do-nilo (*Oreochromis niloticus*). Resultados anteriores realizados demonstraram que a alimentação aditiva destes compostos melhoram a resposta imune e o crescimento dos peixes. Objetivou-se investigar o uso destes compostos no manejo alimentar de tilápias do Nilo no incremento da resposta imune e no crescimento. Aproximadamente 270 peixes foram separados em grupos sem suplementação (GS) e com suplementação (G1, G2, G3, G4, G5, G7 e G8)(n=30/grupo) na alimentação. Os grupos com suplementação foram alimentados com ração acrescida dos compostos naturais nas concentrações 0,5% e 1,0% de óleo de copaíba e 1% e 2% para o extrato de própolis; ambos por quilo de ração. Para análise de imunidade foram realizadas quantificação de lisozima, complemento e atividade respiratória de leucócitos. Para o desafio bacteriano separou-se 10 peixes, aleatórios, de cada grupo para inoculação da bactéria *Streptococcus agalactiae*, selecionada em teste *in vitro*. Os peixes foram avaliados quanto a morbidade e mortalidade até 168h após infecção. O ensaio de 12 semanas foi realizado em delineamento inteiramente casualizado, em triplicata. Sangue e tecido (intestino, rim, fígado e baço) de 6 animais foram coletados para análises histológicas e histopatológicas. Os grupos G2 (0,5OC), G4 (1PROP), G6 (0,5OC1PROP), G8 (1OC1PROP) E G9 (1OC2PROP) apresentaram diferenças estatisticamente significativas entre as análises de desempenho no crescimento, hematológicas, imunológicas, histológicas e histomorfométricas. Constatou-se que a suplementação com estes compostos naturais mostrou resultados satisfatórios em parâmetros, tanto imunológicos quanto de desempenho no crescimento. Sendo assim, a utilização destes compostos mostrou-se favorável como imunoestimulante e potencializam o crescimento.

Palavras-chave: aditivos naturais; imunoestimulantes; fitoterápicos; tilapicultura; desafio bacteriano.

ABSTRACT

Copaiba oil and propolis are organic compounds with known immunostimulating action in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Previous results have demonstrated that additive feeding of these compounds improves the immune response and growth of fish. The objective was to investigate the use of these compounds in the dietary management of Nile tilapia to increase the immune response and growth. Approximately 270 fish were separated into groups without supplementation (GS) and with supplementation (G1, G2, G3, G4, G5, G7 and G8)(n=30/group) in the diet. The supplementation groups were fed food containing natural compounds at concentrations of 0.5% and 1.0% for copaiba oil and 1% and 2% for propolis extract; both per kilo of feed. For immunity analysis, lysozyme, complement and leukocyte respiratory activity were quantified. For the bacterial challenge, 10 random fish were separated from each group for inoculation with the bacteria *Streptococcus agalactiae*, selected in an in vitro test. The fish were evaluated for morbidity and mortality up to 168 hours after infection. The 12-week trial was carried out in a completely randomized design, in triplicate. Blood and tissue (intestine, kidney, liver and spleen) from 6 animals were collected for histological and histopathological analyses. Groups G4 (1PROP), G6(0.5OC1PROP), G8(1OC1PROP) AND G9(1OC2PROP) showed statistically significant differences between growth performance, hematological, immunological, histological and histomorphometric analyses. It was found that supplementation with These natural compounds showed satisfactory results in both immunological and growth performance parameters. Therefore, the use of these compounds proved to be favorable as immunostimulants and enhance growth.

Keywords: natural additives; immunostimulants; herbal medicines; tilapiculture; bacterial challenge.

INTRODUÇÃO

A aquicultura mundial está em processo constante de crescimento, sendo uma das fontes mais importantes de proteína animal. O Brasil apresenta todas as condições favoráveis para a atividade pesqueira e para a aquicultura, uma vez que possui costa marítima de 8.500 km e 12% da água doce disponível no planeta (Sidônio et al., 2012; Pereira et al., 2013; Santos et al., 2013; Silva, 2017).

A tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*, figura 1, é o segundo grupo de peixes mais produzidos no mundo (FAO, 2022) e primeiro no Brasil, com produção de 550 mil toneladas no ano de 2022 (PEIXE BR, 2023), mostrando como qualidades: alta taxa de crescimento, flexibilidade às mudanças ambientais, fácil reprodução e rusticidade (El-Sayed, 2006).



Figura 1 - Exemplar de Tilápia do Nilo. Fonte: Global Sea Food.

Esta espécie é criada principalmente em sistemas intensivos onde as dietas artificiais devem satisfazer as exigências nutricionais. Nestas condições, os peixes são expostos continuamente às alterações na qualidade da água e às práticas de manejo excessivo, transporte e adensamento, que induzem respostas de estresse, com consequências negativas sobre o desempenho produtivo, resposta imune e resistência às doenças (Gatlin, 2002; Brandão et al., 2006; Ng & Romano, 2012; Wambua et al, 2021).

O uso de produtos químicos e antibióticos na aquicultura tem aumentado em função da elevada ocorrência de doenças parasitárias e infecciosas (Kovalakova, 2020). Entretanto, o uso indiscriminado destes produtos ocasiona problemas devido ao aumento da pressão de seleção sobre os microrganismos e proliferação das bactérias resistentes, havendo também a possibilidade de transferência dos genes de resistência às outras bactérias nunca expostas ao antibiótico (Salas, 2021).

Além disso, a presença de resíduos de antibióticos nos tecidos de peixes comercializados determina restrições na comercialização da carne e impacto negativo no meio ambiente (Smith et al., 2003; Sorum, 2006; Santos & Ramos, 2018). Desta forma é necessário buscar possíveis substitutos aos quimioterápicos mantendo-se as ações benéficas e eliminando as indesejáveis. Isto pode ser realizado com o uso de imunostimulantes (Acunha et al, 2023).

Imunostimulantes são substâncias sintéticas, químicas ou biológicas, que são capazes de aumentar e melhorar a resistência do animal induzindo a ativação ou aumentando qualquer componente do sistema imune. Atuam nos mecanismos de defesa não-específicos diante de um desafio contra enfermidades causadas por vírus, fungos, bactérias e parasitas (Vainikka et al., 2005; Moraes & Moraes, 2009, Chagas et al., 2014) e nos mecanismos de defesa específicos dos animais (Yunis-Aguinaga et al., 2015). Os imunostimulantes atuam no sistema imune dos animais de forma a aumentar a atividade de macrófagos, fagocitose por neutrófilos e monócitos e maior produção de linfócitos, imunoglobulinas e lisozima (Sakai, 1999) aumentando a resistência desses animais frente às infecções por organismos oportunistas proporcionando, desta forma, o crescimento saudável dos peixes (Vainikka et al., 2005; Yunis-Aguinaga et al., 2015).

O uso de extratos de plantas como imunostimulantes encontra-se em crescimento para peixes tropicais (Acunha *et al*, 2023), sendo boa alternativa para o controle de doenças devido ao baixo custo operacional, facilidade no preparo, utilização e segurança ambiental. Em estudos realizados em nosso grupo de pesquisa tem-se estudado o uso compostos naturais que apresentam características adequadas para serem consideradas imunostimulantes decorrentes de suas composições ricas em compostos que modulam o sistema imune (Yunis-Aguinaga et al., 2015, Yunis-Aguinaga et al., 2016; Bozzo et al, 2023)

Um desses compostos é o óleo de copaíba, fitoterápico que apresenta características terapêuticas como ação anti-inflamatória, cicatrizante, potencial antisséptico, antitumoral, antibacteriano, germicida, expectorante, diurético, analgésico e possui atividade antidiabética (Veiga Júnior et al., 2002; Rigamonte Azevedo et al., 2004; Carvalho et al., 2017) em humanos e animais. (Pieri et al., 2009).

A copaíba da espécie *Copaifera duckei* é nativa da região Amazônica e o óleo extraído de sua casca possui as frações óleo-resina e óleo essencial com ação anti-inflamatória mais eficaz do que o diclofenaco de sódio (Cavalcante, 2013).



Figura 2. Processo de extração do óleo resina + óleo essencial de copaíba de *Copaifera duckei*

A composição do óleo de copaíba é a base de sesquiterpenos como cubeno e cadineno, ácidos graxos, cumarina, tocoferol, bisaboleno, ácido copálico, cariofileno, flavonas, copaeno, copaína, carioazuleno, humuleno, saponinas, quininos, taninos e selineno. Dentre os compostos do óleo, a resposta antiinflamatória se dá pela ação do cariofileno, (Cavalcante, 2013) conforme observado em estudos realizados em ratos com artrite induzida por adjuvante em que os efeitos das inflamações articulares e sistêmicas foram reduzidos nos animais após o tratamento com o óleo de copaíba (Comar et al., 2013).

O composto cariofileno inibiu o crescimento dos parasitas *Trypanossoma cruzi* e *Leishmania brasiliensis* nas concentrações de 50 e 100 µg/mL em relação

a substância eugenol no estudo realizado por Leite et al. (2013) em ratos. Além de ser um dos principais componentes do óleo de copaíba e atuar como um potente anti-inflamatório por meio da inibição das vias histamínicas e serotoninérgicas com efeito antinociceptivo (mediado por receptores opioides) (Gomes et al., 2010; Lucca et al., 2015).

O cariofileno também possui ação antimicrobiana contra patógenos (Yang et al., 2015). Este fato foi observado no trabalho realizado por Yoo e Jwa (2018) em que observaram que o crescimento de *Streptococcus mutans* foi inibido em concentrações de 0,078%, comprovando a eficácia antimicrobiana do cariofileno. Ele também tem capacidade de penetrar em biofilmes que protegem as bactérias, auxiliando também na inibição da formação do mesmo (Yoo e Jwa, 2018).

O óleo-resina de copaíba também foi eficaz no tratamento do diabetes *mellitus* induzido por estreptozotocina em ratos no estudo realizado por Carvalho et al. (2017). Os autores também observaram redução no colesterol, triglicérides e glicose dos ratos tratados. O óleo-resina restaurou as células alfa do pâncreas e aumentou o diâmetro das ilhotas de Langerhans em ratos.

A eficácia do óleo de copaíba na atividade antibactericida já foi comprovada em diversos estudos realizados em animais e humanos (Pieri et al., 2010; Souza et al., 2011; Dias et al., 2015; Guimarães et al., 2016; Simões et al., 2016), assim como a eficácia na atividade antifúngica (Zimmermam-Franco et al., 2013; Dias et al., 2015; Tobouti et al., 2016). Estes fatos indicam que o óleo de copaíba é um antimicrobiano que age contra bactérias e fungos sendo benéfico em muitas condições infecciosas (Tobouti et al., 2017).

O óleo de copaíba também aumentou a angiogênese em retalho cutâneo subdérmico analisados por Estevão et al. (2009) em fragmentos das porções cranial, média e caudal em ratos 8 dias pós-operatório comprovando seu efeito pró cicatrizante.

O óleo-resina da copaíba da espécie *Copaifera duckei* foi eficaz no tratamento de pacus (*Piaractus mesopotamicus*) infectados por parasitas monogêneos que são os responsáveis por grandes perdas econômicas em aquicultura devido a mortalidade que causam nos peixes (Da Costa et al., 2017). Os autores banharam as brânquias parasitadas por 10 minutos em concentrações de 10 e 50 mg/L de óleo de copaíba.

Com relação a alterações histopatológicas, as lesões observadas nos

peixes estudados por Da Costa et al. (2017), não foram causadas pelo óleo-resina da copaíba, mas sim pelo parasitismo ou condições nutricionais. Os autores ressaltam que o tratamento com óleo-resina é uma alternativa promissora no tratamento contra estes tipos de parasitas.

Outro composto natural muito utilizado é o própolis, fitoterápico amplamente utilizado como promotor de crescimento em tilápias (Meurer et al, 2009; Abass & El Assely, 2012) e também devido às suas propriedades farmacológicas, como anti-inflamatório, antioxidante, antibacteriano, bacteriostático, antisséptico e imunoestimulante (Burdock, 1998; Ramos & Miranda, El-Guendouz et al, 2019; Wolska et al, 2019; Petruzzi et al, 2020).

Sendo uma substância resinosa, o própolis é coletado por abelhas a partir de exsudatos de plantas e modificada com enzimas salivares. Este composto é utilizado pelas abelhas para selar fendas, proteger a colmeia contra intrusos e manter um ambiente estéril (Meurer et al, 2009; Abass & El-Assely, 2012). A composição do própolis varia de acordo com a flora local, mas geralmente contém resinas, bálsamos, ceras, óleos essenciais, pólen e compostos orgânicos, como flavonoides e ácidos fenólicos, que conferem ao própolis suas múltiplas propriedades biológicas (Wolska et al, 2019).



Figura 3. Aspecto visual do própolis (resina).

O própolis contém níveis variáveis de componentes que variam de 45 a 55% de resinas e bálsamos vegetais (ésteres, ácidos fenólicos e flavonóides), 8 a 35% de cera (principalmente cera de abelha), 5 a 10% de óleos aromáticos e essenciais (pineno, viridiflorol, tricosano, e eudesmo), 5% de ácidos graxos (geralmente de cera e o restante dependendo da origem botânica), 5% de pólen e

5% de outros componentes orgânicos (açúcares, quinonas, lactonas, cetonas, esteróides) e microelementos (Fe e Zn) (Bankova et al, 2000) . O própolis varia em cor de amarelo-esverdeado a marrom, dependendo de sua maturação e fontes (Burdock, 1998; Wach, 2013).

A composição do própolis contém grande número de biomoléculas incluindo fenóis, ésteres, terpenos, hidrocarbonetos, açúcares e componentes minerais. Foi relatado que o própolis contém vários compostos bioativos, como flavonas, flavonóis, dihidroflavonol, flavanonas e compostos fenólicos totais. Esses compostos bioativos têm estreita associação com a sua atividade biológica (Bankova, 2005; Stan et al, 2011; Oruç et al, 2017).

Sua atividade antimicrobiana é uma das mais bem documentadas, sendo eficaz contra diferentes micro-organismos. O estudo da ação antibacteriana contra várias cepas tem demonstrado que o própolis é mais eficaz contra bactérias Gram-positivas do que Gram-negativas (Sforcin et al., 2000). O própolis também apresenta atividade antifúngica (Sforcin et al., 2001; Ota et al., 2001; Siqueira et al., 2009), anti-parasitária (Freitas et al., 2006; Salomão et al., 2011; Da Silva et al., 2013) e antiviral (Bufalo et al., 2009), sendo que ela age diretamente sobre os micro-organismos *in vitro* ou estimular o sistema imune para eliminá-los *in vivo* (Sforcin & Bankova, 2011). Dessa forma, o própolis induz aumento na atividade antimicrobiana de macrófagos contra *Paracoccidioides brasiliensis* (Murad et al., 2002), contra *Samonella Typhimurium* (Orsi et al., 2005), de monócitos contra *Candida albicans* (Cardoso et al., 2017), e células dendríticas (DCs) contra *Streptococcus mutans* (Conti et al., 2016).

Na piscicultura, o uso de própolis como imunoestimulante tem ganhado destaque devido à necessidade de alternativas naturais e eficazes para a promoção da saúde dos peixes (Meurer et al, 2009; Abass & El-Assely, 2012). O própolis melhora a resposta imune dos peixes, aumentando a produção de células de defesa, como leucócitos, e a atividade de enzimas imunológicas, como a lisozima. Isso resulta em uma maior resistência às infecções, redução da mortalidade e melhoria do bem-estar geral dos peixes, contribuindo para uma produção mais sustentável e eficiente (Dotta et al, 2015).

O cultivo de tilápias, em particular, tem se beneficiado do uso de própolis. Estudos mostram que a suplementação de dietas de tilápias com própolis melhora parâmetros imunológicos, como a atividade fagocítica e a produção de anticorpos.

Além disso, peixes suplementados com própolis apresentam melhores taxas de crescimento e conversão alimentar, provavelmente devido ao efeito positivo do própolis na saúde intestinal e na digestão (Cardoso et al., 2017).

Peixes redondos, como o tambaqui e o pacu, também têm mostrado respostas positivas ao uso de própolis. A suplementação com própolis nestes peixes resulta em uma melhor resistência a patógenos comuns na aquicultura, como *Aeromonas hydrophila* e *Streptococcus agalactiae*. Além disso, o própolis auxilia na recuperação de peixes após infecções ou estresses ambientais, acelerando o processo de cicatrização e reduzindo o uso de antibióticos (Dotta et al, 2015).

A aplicação de própolis na aquicultura não se limita apenas à alimentação. O uso tópico de extratos de própolis em feridas e lesões cutâneas de peixes tem mostrado acelerar a cicatrização e prevenir infecções secundárias. Isso é particularmente útil em sistemas intensivos de cultivo, onde os peixes são mais suscetíveis a lesões e infecções devido à alta densidade populacional e ao manejo frequente (Meurer et al, 2009; Abass & El-Assely, 2012). Além dos benefícios diretos para a saúde dos peixes, o uso de própolis na aquicultura contribui para a sustentabilidade do setor. Ao reduzir a dependência de antibióticos e outros medicamentos sintéticos, o própolis ajuda a diminuir o risco de desenvolvimento de resistência antimicrobiana e a contaminação ambiental (Mafra et al, 2022). Isso está alinhado com as práticas de aquicultura responsável e sustentável, que buscam minimizar os impactos negativos ao meio ambiente e garantir a segurança alimentar através dos Objetivos de Desenvolvimento Sustentáveis da ONU, pela Agenda 2030 (ONU, 2015).

Por ser um composto natural com múltiplas propriedades benéficas, o própolis têm diversas opções que podem ser exploradas na aquicultura. Seu uso como imunostimulante em tilápias, peixes redondos e outras espécies cultivadas oferece uma alternativa promissora para a promoção da saúde e bem-estar dos peixes (Meurer et al, 2009; Abass & El-Assely, 2012). Ao melhorar a resistência às doenças, promover o crescimento saudável e reduzir a necessidade de tratamentos químicos, o própolis se destaca como uma ferramenta valiosa para a aquicultura moderna e sustentável (ONU, 2015).

Portanto, diante da possibilidade da utilização de compostos fitoterápicos como imunostimulantes previamente às infecções causadas por bactérias

comumente afetadas no cultivo de peixes em aquicultura, o estudo em questão pretende avaliar a eficácia da adição de óleo de copaíba e própolis à dieta de *Oreochromis niloticus* e investigar suas ações como antimicrobianos, anti-inflamatórios e suas atuações no sistema imunológico de tilápias do Nilo, assim como seu papel no efeito de crescimento desta espécie.

CONCLUSÃO

O presente estudo investigou os efeitos da suplementação com óleo de copaíba e extrato de própolis no sistema imunológico, no crescimento e na proteção contra infecções de tilápias. Os resultados obtidos demonstram que ambos os compostos, isolados ou em associação, tiveram um impacto positivo significativo na resposta imunológica, evidenciado por marcadores imunológicos melhorados. Além disso, esses compostos demonstraram efeito protetivo contra a infecção pelo *Streptococcus agalactiae*, uma patologia comum e prejudicial à piscicultura.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACUNHA, R. M. G. .; SANCHES, D. de S. .; ALMEIDA, R. G. dos S. .; OLIVEIRA, F. C. .; SOARES, M. P. .; DAVALO, M. R. S. .; SILVA, M. E. V. M. da .; OLIVEIRA, K. K. C. de .; CAMPOS, C. M. de . The use of immunomodulators in fish feed: A review. **Research, Society and Development**, [S. l.], v. 12, n. 4, p. e11312440964, 2023.

ALRASHADA, Yousof N. et al. Dietary propolis improves the growth performance, redox status, and immune response of Nile tilapia upon a cold-stress challenge. **Plos one**, v. 18, n. 11, p. e0293727, 2023.

AMAR E.; KIRON V.; SATOH S.; WATANABE T. Influence of various dietary synthetic carotenoids on bio-defense mechanisms in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. **Aquacult. res.** V. 32, p. 162–173. 2001.

BELO M.; SCHALCH S.; MORAES F.; SOARES V.; OTOBONI A.; MORAES, J. Effect of dietary supplementation with vitamin E and stocking density on macrophage recruitment and giant cell formation in the teleost fish, *Piaractus mesopotamicus*. **Journal of Comparative Pathology**, v.133, p.146-54, 2005.

BELO DA, MORAES JRE, SOARES VE. MARTINS ML, BRUM CD, MORAES FR. D. 2012. Vitamin C and endogenous cortisol in foreign-body inflammatory response in pacus. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, V.47(7), p.1015-1021.

BIHAREE, Avadh et al. Antimicrobial flavonoids as a potential substitute for overcoming antimicrobial resistance. **Fitoterapia**, v. 146, p. 104720, 2020.

BRANDÃO F.; GOMES L.; CHAGAS E. Respostas de estresse em pirarucu (*Arapaimagigas*) durante práticas de rotina em piscicultura. **Acta Amaz.** V. 36, p. 349–356. 2006

BOZZO, F. R. .; DA SILVA CLAUDIANO, G. .; AGUINAGA, JEFFERSON YUNIS .; MARCUSSO, P. F. .; ENGRÁCIA FILHO, JAIR R. .; Moraes J.R.E. . Effects of supplementation with vitamins C and E on the acute inflammatory response in *Piaractus mesopotamicus*. **CIÊNCIA ANIMAL BRASILEIRA**, v. 04, p. 73661, 2023.

CARVALHO, P.E.R. **Espécies florestais brasileiras: recomendações silviculturais, potencialidades e uso de madeira**. Brasília: EMBRAPA/CNPQ, 1994. 640p.

CAVALCANTE, R. **Fitodontologia**. 1. Ed. Rio Branco, 2013. 267p.

CHAGAS, E; MAJOLO, C; BOIJINK, C.; CHAVES, F.; HASHIMOTO, G.; FIGUEREDO, A. & MARTINS, M. Uso de óleos essenciais e extratos no tratamento

de enfermidades de peixes. In: Maldi RR, Campos CM, Lizama MAP, Takemoto RM, responsabilidade intelectual. **Patologia e sanidade de ambientes aquáticos**. Maringá: Editora Massoni, p.269, 2014.

CLAUDIANO G.; DIAS NETO J.; SAKABE R. et al. Eficácia do extrato aquoso de "*Terminalia catappa*" em juvenis de tambaqui parasitados por monogenéticos e protozoários. **Rev. Bras. Saúde Prod Anim**. V. 10, n. 3, p. 625-636, 2009.

COMAR, J.C.; DE SÁ-NAKANISHI, A.B.; DE OLIVEIRA, A.L.; WENDT, M.M.N.; BERSANI-AMADO, C.A.; ISHII-IWAMOTO, E.L.; PERALTA, R.M.; BRACHT, A. Oxidative state of the liver of rats with adjuvant-induced arthritis. **Free Radical Biology and Medicine**, v.58, p. 144-153, 2013.

DOTTA, G.; BRUM, A.; JERONIMO, G. T.; MARASCHIN, M.; LATERÇA, M. Effect of dietary supplementation with propolis and *Aloe barbadensis* extracts on hematological parameters and parasitism in Nile tilapia. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 24, n. 1, p. 66–71, jan. 2015.

EL-SAYED A. **Tilapia culture**. p. 277. London: Cabi. 2006.

FAO. **The State of World Fisheries and Aquaculture**. p. 197. Rome. 2022.

GATLIN D. Nutrition and fish health. Em: **Fish Nutrition**. Halver J. & Hardy R. (eds.), 3rd edition. London: Academic Press. p. 671-702. 2002.

GERTSCH, J.; LEONTI, M.; RADUNER, S.; RACZ, I.; CHEN, J. Z.; XIE, X. Q.; ALTMANN, K. H.; KARSAK, M.; ZIMMER, A. Beta-caryophyllene is a dietary cannabinoid. **Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.**, v. 105, p. 9099–9104, 2008.

GOMES, N. M.; REZENDE, C. M.; FONTES, S. P.; MATHEUS, M. E.; PINTO, A. da C.; FERNANDES, P. D. Characterization of the antinociceptive and anti-inflammatory activities of fractions obtained from *Copaifera multijuga* Hayne, **J. Ethnopharmacol.**, v.128, p. 177–183. 2010.

HASHIMOTO, G.S.O.; NETO, F.M.; ACHCHILE, M.L.; CHAGAS, E.C.; CHAVES, F.C.M.; MARTINS, M.L. Essential oils of *Lippia sidoides* and *Mentha piperita* against monogenean parasites and their influence on the hematology of Nile tilapia. **Aquaculture**, 450, pp. 182-186, 2016.

IBRAHEM M.; FATHI M.; MESALHY S.; EL-ATY A. 2010. Effect of dietary supplementation of inulin and vitamin C on the growth, hematology, innate immunity, and resistance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Fish Shellfish Immunol**. 29, 241-246.

KHAMENEH, B.; IRANSHAHY, M.; SOHEILI, V.; FAZLY BAZZAZ, B.S. Review on

plant antimicrobials: a mechanistic viewpoint. **Antimicrob Resist Infect Control**. 2019

KOVALAKOVA, P.; CIZMAS, L.; MCDONALD, T. J.; MARSALEK, B.; FENG, M., & SHARMA, V. K. (2020). Occurrence and toxicity of antibiotics in the aquatic environment: A review. **Chemosphere**, v. 251, p. 126351, 2020.

LAHIRI, Dibyajit et al. Elucidating the effect of anti-biofilm activity of bioactive compounds extracted from plants. **Journal of biosciences**, v. 44, n. 2, p. 52, 2019.

LEITE, N. F.; SOBRAL-SOUZA, C. E.; ALBUQUERQUE, R. S.; BRITO, D. I. V.; LAVOR, A. K. L. S.; ALENCAR, L. B. B.; TINTINO, S. R.; FERREIRA, J. V. A.; FIGUEREDO, F. G.; LIMA, L. F.; CUNHA, F. A. B.; PINHO, A. I.; COUTINHO, H. D. M. In vitro cytotoxic and antiparasitic activity of caryophyllene and eugenol against *Trypanosoma cruzi* and *Leishmania brasiliensis*. **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, v. 18, n. 4, p. 522-528, 2013.

LUCCA, L. G.; MATOS, S. P. de; BORILLE, B. T.; DIAS, D. de O.; TEIXEIRA, H. F.; VEIGA Jr., V. F.; LIMBERGER, R. P.; KOESTER, L. S. Determination of β -caryophyllene skin permeation/retention from crude copaiba oil (*Copaifera multijuga* Hayne) and respective oil-based nanoemulsion using a novel HS-GC/MS method. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 104, p. 144-148, 2015.

LUNA, Lee G. **Manual of histologic staining methods of the Armed Forces Institute of Pathology**. In: Manual of histologic staining methods of the Armed Forces Institute of Pathology. p. xii, 258-xii, 258, 1968.

MAFRA, J.F.; DE SANTANA, T.S.; CRUZ, A.I.C.; FERREIRA, M.A.; MIRANDA, F.M.; ARAÚJO, F.M.; RIBEIRO, P.R.; EVANGELISTA-BARRETO, N.S. Influence of red propolis on the physicochemical, microbiological and sensory characteristics of tilapia (*Oreochromis niloticus*) salami. **Food Chem**, p.15;394:133502, 2022.

MARTINS M.; VIEIRA F.; JERÔNIMO G.; MOURIÑO J.; DOTTA G.; SPECK G.; JATOBÁ A.; PEDROTTI F.; BUGLIONE-NETO C.; PEREIRA G. Leukocyte response and phagocytic activity in Nile tilapia experimentally infected with *Enterococcus sp.* **FishPhysiol Biochem**. V.35, p. 219-222. 2009.

MORAES F.; MARTINS M. Condições predisponentes e principais enfermidades de teleosteos em piscicultura intensiva, In: CYRINO, J.E.P.; URBINATI, E.C.; FRACALOSI, D.M. et al. (Eds). **Tópicos especiais em piscicultura de água tropical intensiva**. São Paulo: TecArt, 2004. p.343-383.

MORAES F.; MORAES J. Nutracêuticos na inflamação e cicatrização de peixes de interesse zootécnico. In: TAVARES-DIAS M. (Ed.). **Manejo e sanidade de peixes em cultivo**. Macapá: Embrapa. p. 625-723. 2009.

NG, W.& ROMANO, N. A review of the nutrition and feeding management of farmed tilapia throughout the culture cycle. **Rev Aquac.** V.5(4), p: 220–54, 2013.

ONU. Organização das Nações Unidas. **Transformando Nosso Mundo: A Agenda 2030 para o Desenvolvimento Sustentável.** 2015.

PEREIRA, D.P.; SANTOS, D.M.S.; CARVALHO NETA, A.V.; CRUZ, C.F.; CARVALHO NETA, R.N.F. Alterações morfológicas em brânquias de *Oreochromis niloticus* (Pisces, Cichlidae) como biomarcadores de poluição aquática na laguna da Jansen, São Luís, MA (Brasil), **Bioscience Journal**, Uberlândia, v.30, n.4, p.1213- 21, 2014.

PIERI, F. A.; MUSSI, M. C.; MOREIRA, M. A. S. Óleo de copaíba (*Copaifera* sp): histórico, extração, aplicações industriais e propriedades medicinais. **Revista Brasileira de Plantas Medicinai**s, v. 11, n. 4, p. 465-472, 2009.

RIGAMONTE AZEVEDO, O.C. et al. Potencial de produção de óleo-resina de copaíba (*Copaifera* sp.) de populações naturais do sudoeste da Amazônia. **Revista Árvore**, v.30,n.4, p.583-91, 2004.

SALAS, G.; VIDAL DEL RIO, M. & CONCEPCION, P. Uso intensivo de antibióticos profiláticos en la acuicultura: un problema creciente para la salud humana y animal. **Revista Universidad y Sociedad**, v. 13(S2), p. 204-210, 2021

SANTOS, L.; RAMOS, F. Antimicrobial resistance in aquaculture: Current knowledge and alternatives to tackle the problem. **International Journal Antimicrobial Agents**, v.52 (2), p.135-143, 2018.

SANTOS, E.F.; TAVARES-DIAS, M.; PINHEIRO, D.A.; NEVES, L.R.; MARINHO, R.G.B.; DIAS, M.K.R. Fauna parasitária de tambaqui *Colossoma macropomum* (Characidae) cultivado em tanque-rede no estado do Amapá, Amazônia oriental. **Acta Amazônica**, v.43, n.1, p.105-12, 2013.

SIDONIO, L.; CAVALCANTI, I.; CAPANEMA, L.; MORCH, R.; AGALHAES, G.; LIMA, J.; BRUNS, V.; JUNIOR, A. J. A.; MUNGIOLI, R. Panorama da aquicultura no Brasil: desafios e oportunidades – BNDES Setorial. 2012.

SILVA, G.H. Ecoeconomia e pesca esportiva: o meio ambiente como oportunidade sustentável de negócios, Santos-Brasil. 2017, 131f. Dissertação (Mestrado em Direito Ambiental) - Universidade Católica de Santos, Santos, 2017.

SMITH V.; BROWN J.; HAUTON C. Immunostimulations in crustaceans, does it really protect against infection?. **Fish. shellfish immun.** V. 15, p. 71-90. 2003.

SOARES B.V.; NEVES, L.R.; OLIVEIRA, M.S.B.; CHAVES, F.C.M.; CHAGAS, M.K.R.; DIAS, E.C.; CHAGAS, M. T. Antiparasitic activity of the essential oil of *Lippia*

alba on ectoparasites of *Colossoma macropomum* (tambaqui) and its physiological and histopathological effects. **Aquaculture**, 452, pp. 107-114, 2016.

SORUM H. Antimicrobial drug resistance in fish pathogens. In: AARESTRUP. **Antimicrobial resistance in bacteria of animal origin**. p. 213-238. 2006.
VAINIKKA A.; JOKINEN E.; KORTET R.; PAUKKU S. PIRHONEN J.; RANTALA, M.; TASKINEN J. Effects of testosterone and B-glucan on immune function in tench. **J.Fish Biol.** V. 66, p. 348-361. 2005.

SCHWARZ K.K.; FURUYA W.M.; NATALI M.R.M.; MICHELATO M. & GUALDEZI M.C. Mananoligossacarídeo em dietas para juvenis de Tilápias-do-Nilo. **Acta Scient., Anim. Sci.** 32(2):197-203, 2010.

STÄHLI, A.; SCHRÖTER, H., BULLITTA, S., SERRALUTZU, F., DORE, A., NIETZSCHE, S. & EICK, S. In vitro activity of propolis on oral microorganisms and biofilms. **Antibiotics**, v. 10, n. 9, p. 1045, 2021.

VEIGA JUNIOR, V.F. et al. Plantas medicinais: cura segura. **Química nova**, v.28, n.3, p.519-28, 2005.

WAMBUA D., HOME PG, RAUDE J. & ONDIMU S. Environmental and energy requirements for different production biomass of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) in recirculating aquaculture systems (RAS) in Kenya. **Aquac Fish.** V. 6(6), p: 593-600. 2021

YUNIS-AGUINAGA, J., CLAUDIANO, G. S., MARCUSSO, P. F., MANRIQUE, W. G., DE MORAES, J. R. E., DE MORAES, F. R., & FERNANDES, J. B. *Uncaria tomentosa* increases growth and immune activity in *Oreochromis niloticus* challenged with *Streptococcus agalactiae*. **Fish shellfish immunol**, V.47(1), p.630-638. 2015

ZIMMERMAN S.; FITZMMONS K. Tilapicultura intensiva. Em: CYRINO, J.; URBINATI E.; FRACALOSSO, D. et al (Eds). **Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva**. Campo Belo: Tecart. p. 239-266. 2004.