

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ – UNIOESTE
CAMPUS DE MARECHAL CÂNDIDO RONDON
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

LETÍCIA ANGÉLICA PEREIRA

ÓLEO ESSENCIAL DE ALHO NA INCUBAÇÃO DE OVOS DE JUNDIÁ

Marechal Cândido Rondon
2015

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ – UNIOESTE
CAMPUS DE MARECHAL CÂNDIDO RONDON
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

LETÍCIA ANGÉLICA PEREIRA

ÓLEO ESSENCIAL DE ALHO NA INCUBAÇÃO DE OVOS DE JUNDIÁ

Dissertação apresentada à Universidade Estadual do Oeste do Paraná como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, área de concentração em Produção e Nutrição Animal, para a obtenção do título de “Mestra em Zootecnia”.

Orientador: Prof. *PhD*. Nilton Garcia Marengoni
Coorientador: Prof. Dr. Robie Allan Bombardelli

Marechal Cândido Rondon

2015

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ – UNIOESTE
CAMPUS DE MARECHAL CÂNDIDO RONDON
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

LETÍCIA ANGÉLICA PEREIRA

ÓLEO ESSENCIAL DE ALHO NA INCUBAÇÃO DE OVOS DE JUNDIÁ

Dissertação apresentada à Universidade Estadual do Oeste do Paraná como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação *strictu sensu* em Zootecnia, Área de Concentração “Produção e Nutrição Animal”, para a obtenção do título de “Mestra em Zootecnia”.

Marechal Cândido Rondon, 20 de outubro de 2015.

BANCA EXAMINADORA

Prof. *PhD.* Nilton Garcia Marengoni
Universidade Estadual do Oeste do Paraná

Prof. Dr. Robie Allan Bombardelli
Universidade Estadual do Oeste do Paraná

Prof. Dra. Marivone Valentim Zabott
Universidade Federal do Paraná

Profa. Dra. Cleide Viviane Buzanello Martins
Universidade Estadual do Oeste do Paraná

AGRADECIMENTOS

Primeiramente quero agradecer ao Pai, ao Filho e ao Espírito Santo, que me deram forças, direção e fé para começar e terminar o mestrado.

Aos meus pais, Celso e Jascy, que me apoiaram e me incentivaram para que eu entrasse no mestrado, vindo morar comigo em Toledo;

À minha filha Eloiza, que muitas vezes me acompanhou nesse trabalho;

Ao meu marido, José Luiz, que me ajudou na parte final dos experimentos;

Aos integrantes do Laboratório de Tecnologia da Reprodução dos Animais Aquáticos Cultiváveis (LATRAAC), Adriano, Andressa, Alexandre, Maurício, Márcio, Elenice e todos os estagiários que me ajudaram na realização dos experimentos;

Aos alunos do Grupo de Estudos em Tilapicultura (GET), Luciane, Mateus e Marcelo, pelo suporte durante as análises e manuscritos;

À professora Dra. Cleide Buzanello Martins e a colega Édela pela orientação e ajuda nas análises microbiológicas;

Ao professor Dr. Cláudio Yuji Tsutsumi pela ajuda nas análises estatísticas;

Aos colegas e professores do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia (PPZ) da Unioeste pela amizade e aprendizado;

Ao Assistente do PPZ, Paulo, pela disposição e prontidão em responder minhas solicitações e dúvidas;

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) pela concessão da bolsa de estudo;

Ao professor coorientador Dr. Robie Allan Bombardelli pelo apoio, disposição e ensinamentos;

E finalmente, ao meu orientador, professor *PhD*. Nilton Garcia Marengoni, que foi a pessoa que mais me ajudou neste trabalho, cumprindo fielmente a sua função de orientador. Muito obrigada professor por ter me orientado na parte dos experimentos, estágio de docência, manuscritos e apresentações. Obrigada pelos incentivos, dedicação e apoio.

RESUMO

PEREIRA, LETÍCIA ANGÉLICA. Mestrado em Zootecnia. Universidade Estadual do Oeste do Paraná, outubro, 2015. **Óleo essencial de alho na incubação de ovos de jundiá.** Orientador: *PhD*. Nilton Garcia Marengoni.

A incubação artificial de ovos de peixes proporciona maiores quantidades de alevinos em relação às condições naturais. Porém, um dos procedimentos para que esta técnica reprodutiva obtenha bons resultados é a utilização de produtos antimicrobianos na água de incubação. Objetivou-se avaliar o efeito da utilização do óleo essencial de alho (*Allium sativum*) sobre as taxas de fertilidade, eclosão e normalidade das larvas de ovos de jundiá, *Rhamdia quelen*, incubados artificialmente. A pesquisa consistiu de dois experimentos (I e II) realizados no Instituto de Pesquisas em Aquicultura Ambiental (InPAA), Toledo, PR, no período de outubro a dezembro de 2014. Foi utilizado delineamento experimental inteiramente casualizado com quatro tratamentos e cinco repetições. Os tratamentos consistiram na introdução de óleo essencial de alho nas incubadoras, utilizando um sistema fechado de recirculação de água, com os níveis de 0; 5; 10 e 20 e 0; 1; 3 e 5 mg L⁻¹ de óleo essencial de alho, respectivamente para o experimento I e II. A taxa de fertilização foi determinada após o fechamento do blastóporo, aproximadamente 10 horas pós-fertilização e a taxa de eclosão foi calculada com 24 h pós-fertilização, quando observado as larvas se desprendo do ovo. Utilizou-se do padrão morfológico de larvas para determinar a taxa de normalidade, com o auxílio de um microscópio estereoscópio. No experimento I a dosagem 5 mg L⁻¹ promoveu maiores ($p < 0,05$) taxas de fertilização e eclosão dos ovos. Nos níveis 10 e 20 mg L⁻¹ houve morte de todos os embriões nas primeiras 10h após a fecundação. No experimento II a dosagem de 5 mg L⁻¹ promoveu melhores taxas de fertilização ($p < 0,01$) e eclosão ($p < 0,05$) em relação às demais concentrações de óleo essencial de alho. As taxas de fertilização e eclosão variaram de 65,80 a 83,70% e 57,60 a 71,40%, respectivamente. Os níveis de óleo essencial de alho apresentaram efeito linear sobre as taxas de fertilização ($p < 0,01$) e eclosão ($p < 0,05$). O óleo de alho não influenciou na normalidade das larvas ($p > 0,05$). Recomenda-se utilizar 5 mg L⁻¹ de óleo essencial de alho para promover melhores taxas de fertilização e eclosão de ovos de jundiá incubados artificialmente.

Palavras-chave: *Allium sativum*, eclosão de ovos, fertilidade, *Rhamdia quelen*

ABSTRACT

PEREIRA, LETÍCIA ANGÉLICA. Master Course in Animal Science West Paraná State University, 2015, October. **Essential oil of garlic in the incubation of silver catfish eggs.** Adviser: *PhD*. Nilton Garcia Marengoni.

This study aimed to evaluate the effect of garlic essential oil (*Allium sativum*) on the fertility rate and hatching of silver catfish eggs, *Rhamdia quelen*, artificially incubated. The research consisted of two experiments (I and II) at the Institute for Research in Environmental Aquaculture (InPAA), Toledo-PR, from October to December 2014. It used a randomly experimental design with the four treatments and five repetitions. The treatments consisted on the introduction of garlic essential oil on the incubators of fish eggs with the levels of 0; 5; 10 and 20 and 0; 1; 3 and 5 mg L⁻¹ of oil, on experiments I and II respectively. The fertilization rate was determined after the closing of the blastopore, approximately 10 hours post-fertilization and the hatching rate was calculated 24 hours post-fertilization, when it was observed the larvae shedding egg. It used the standard morphological larvae to determine the normal rate, with the aid of a stereoscopic microscope. On the experiment I the dosage of 5 mg L⁻¹ promoted the biggest ($p < 0.05$) rates of fertilization and hatching of the eggs. At levels of 10 and 20 mg L⁻¹ was death from all embryos within 10h after fertilization. In the second experiment the dosage of 5 mg L⁻¹ promoted best fertilization rates ($p < 0.01$) and hatching ($p < 0.05$) compared to other essential oil concentrations of garlic. The fertilization and hatching rates ranged from 65.80 to 83.70% and 57.60 to 71.40%, respectively. The essential garlic oil levels showed linear effect on the fertilization rates ($p < 0.01$) and hatching ($p < 0.05$). Garlic oil did not influence the normal larvae ($p < 0.05$). It is recommended to use 5 mg L⁻¹ essential oil of garlic to promote better rates of fertilization and hatching of silver catfish eggs artificially incubated.

Keywords: *Allium sativum*, hatching eggs, fertility, *Rhamdia quelen*

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Princípio ativo de plantas e suas propriedades antimicrobianas.....	15
Tabela 2.	Princípio ativo de plantas e suas propriedades antimicrobianas e imunoestimulantes.....	16
Tabela 3.	Composição centesimal do alho in natura	19
Tabela 4.	Valores de temperatura (TP), oxigênio dissolvido (OD) e pH da água no período da manhã (8 h) e a tarde (19 h), durante a incubação artificial dos ovos de jundiá submetidos a diferentes concentrações de óleo essencial de alho.....	33
Tabela 5.	Taxas de fertilização e eclosão (média $\pm$ desvio padrão) de ovos de jundiá incubados artificialmente e submetidos a diferentes doses de óleo essencial de alho.....	34
Tabela 6.	Taxas de fertilização, eclosão e larvas normais (média $\pm$ desvio padrão), de ovos de jundiá incubadas artificialmente, submetidas a diferentes doses de óleo essencial de alho.....	34

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Aspecto geral da planta (<i>Allium sativum</i>).....	18
Figura 2.	Principais constituintes químicos do alho.....	19
Figura 3.	Seleção de reprodutores dos tanques do InPAA.....	30
Figura 4.	Incubadoras artificiais de ovos de peixes em sistemas individuais de recirculação de água e incubadoras de 2,5 L.....	31

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	10
2 REVISÃO.....	12
2.1 Características produtivas e reprodutivas do jundiá (<i>Rhamdia quelen</i>).....	12
2.2 Incubação artificial de ovos de peixes.....	12
2.3 Microrganismos prejudiciais durante a incubação artificial de ovos de peixes.....	13
2.4 Produtos utilizados em incubadoras de ovos de peixes.....	13
2.5 Atividade antimicrobiana dos produtos naturais.....	14
2.5.1 Atividade antimicrobiana dos produtos naturais em peixes.....	15
2.5.2 Produtos naturais utilizados em ovos de peixes.....	17
2.6 Alho (<i>Allium sativum</i> L.).....	17
REFERÊNCIAS.....	21
3 UTILIZAÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DE ALHO NA INCUBAÇÃO ARTIFICIAL DE OVOS DE <i>Rhamdia quelen</i>.....	27
Resumo.....	27
Abstract.....	28
3.1 Introdução.....	29
3.2 Material e Métodos.....	30
3.3 Resultado e Discussão.....	32
3.4 Conclusões.....	35
3.5 Agradecimentos.....	36
3.6 Referências.....	36
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	39

1 INTRODUÇÃO

O aumento mundial da produção de peixes de água doce nos últimos anos (FAO, 2014) suscita a implantação de novas tecnologias de manejo, nutrição e reprodução na piscicultura. A eficiência reprodutiva de diferentes espécies de peixes é dependente de diversos fatores que atuam em conjunto para que a reprodução seja efetiva e produza um grande número de larvas saudáveis. Dentre estes fatores estão o cuidado com o manejo e manutenção dos reprodutores no período pré-reprodução até cuidados relacionados com os ovos pós-fertilização (ANDRADE et al., 2015).

A incubação artificial de ovos de peixes torna-se indispensável em pisciculturas comerciais, pois proporciona uma maior quantidade de alevinos. Esta técnica reprodutiva permite que os ovos fiquem protegidos e independe de condições climáticas, já que a temperatura pode ser controlada (BOBE; LABBÉ, 2010).

Segundo El Sayed (2006) o bom funcionamento da tecnologia de incubação de ovos gera sustentabilidade de produção de alevinos, pois, como descreveram Bobe e Labbé (2010) proporciona melhor qualidade do ovo, além de aumentar a capacidade de eclosão. Neste contexto, pode-se afirmar que a incubação de ovos aumenta a taxa de sobrevivência em relação às condições naturais.

As técnicas de incubação e produção de larvas e alevinos visam uma produção maior e uma taxa de sobrevivência superior de peixes e alevinos (PAVANELLI et al., 2008; NOGA, 2010). De acordo com de Woynarovich e Horváth (1983) de 20 a 70% dos ovos produzidos têm possibilidade de se transformarem em alevinos, enquanto que na natureza esta taxa, geralmente, é inferior a 1% (ANDRADE et al., 2015).

Na maioria das espécies de peixes um dos principais gargalos é a produção estável de juvenis de alta qualidade, sendo os principais sintomas observados: o baixo crescimento, alta mortalidade e malformação (VADSTEIN et al., 2004). Diversos fatores podem estar relacionados com estes sintomas, como a qualidade dos gametas, nutrição inadequada dos reprodutores, condições físico-químicas da água desfavoráveis e interações peixe-microrganismo prejudiciais (GHIRALDELLI et al., 2007), como por exemplo, o fungo *Saprolegnia* sp. em ovos de peixes. Neste contexto, é importante manter as condições físico-químicas da água constantes e em conformidade com o desenvolvimento embrionário de cada espécie e realizar o manejo profilático da água com produtos a fim de controlar os microrganismos nocivos.

O formaldeído, verde de malaquita, permanganato de potássio, peróxido de hidrogênio e ácido acético iodo povidine são alguns dos produtos utilizados para o tratamento da água de incubação (FUANGSAWAT et al., 2011). Estes produtos químicos podem ser prejudiciais, tanto para o meio ambiente, quanto para o consumidor, pois podem deixar resíduos na água e no peixe (CELADA et al., 2006). Dessa forma, os extratos de plantas estão sendo utilizados como alternativa para substituição aos produtos químicos. As plantas contêm vários princípios ativos como compostos fenólicos, polifenóis, alcalóides, quinona, terpenóides, lectina e polipeptídeos que atuam como antimicrobianos e na melhora do sistema imune (HARIKRISHNAN et al., 2011). Dentre as plantas que contêm estas propriedades estão alecrim, alho, canela, cominho, cravo, gengibre, orégano, pimenta vermelha e tomilho (BURT, 2004; CEYLAN; FUNG, 2004; BUTOLO, 2005).

O alho, *Allium sativum*, da família Liliácea, é uma planta bulbosa perene, originária da Ásia Central e Ocidental. Esta hortaliça tem sido experimentada e utilizada na aquicultura por promover o crescimento, estimular o apetite e conter propriedades imunoestimulantes, antibacterianas e antifúngicas (SHALABY et al., 2006; SYAHIDAH et al., 2015). As propriedades antimicrobianas são devidas aos compostos biologicamente ativos, sulfurados e bioflavonóides presentes na parte bulbônica, como, principais, a alicina e o ajoeno (LEE; GAO, 2012).

As pesquisas realizadas com a utilização do alho em peixes produziram bons resultados, porém faltam estudos mais abrangentes da utilização desse produto e, também, com relação à fase de vida do peixe e da espécie a ser estudada. São necessários estudos que avaliem a utilização de compostos naturais em especial do alho, visando uma melhora na eficiência dos processos reprodutivos e que contribuam para redução de danos ao ambiente e consequentemente reduzem os custos de produção.

Este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da utilização do óleo essencial de alho (*Allium sativum*), como um produto natural, sobre as taxas de fertilidade e eclosão de ovos e normalidade das larvas de jundiá, *Rhamdia quelen*, incubados artificialmente.

2 REVISÃO

2.1 Características produtivas e reprodutivas do jundiá (*Rhamdia quelen*)

O jundiá, *Rhamdia quelen*, (QUOY & GAIMARD, 1824) também denominado catfish sul americano, é uma espécie nativa do Brasil, encontrado nas Américas Central e do Sul. Este siluriforme possui características favoráveis para produção comercial, pois tem boa aceitação pelo mercado consumidor, aceita bem dietas formuladas com diferentes ingredientes, apresenta bom crescimento, espécie rústica, resistente a baixas temperaturas e condições de manejo (BARCELLOS et al., 2012).

Além do bom desempenho produtivo, outro fator que favoreceu o destaque desta espécie na piscicultura brasileira foi o domínio do processo reprodutivo em cativeiro. As características reprodutivas desta espécie reofílica tornam-na ainda mais promissora para produção em grande escala. O *Rhamdia quelen* atinge maturidade sexual por volta de um ano de idade, apresenta dois picos reprodutivos por ano, libera grandes quantidade de gametas e respondem bem a indução hormonal, a reprodução artificial e incubação artificial de ovos e larvas com baixa mortalidade pós-desova e alta sobrevivência na fase larval (BALDISSEROTTO; NETO, 2013). Desta forma, pode ser considerado um excelente material biológico para ensaios de reprodução artificial em peixes.

2.2 Incubação artificial de ovos de peixes

Na natureza as taxas de mortalidade nos estágios iniciais de desenvolvimento do peixe, fase de ovo e larva, são altas. A incubação artificial de ovos de peixes proporciona maior sobrevivência, pois permite que o ovo fique protegido e oferece condições favoráveis para que a eclosão aconteça (BOBE; LABBÉ, 2010).

Porém, para que haja sucesso na incubação artificial de ovos de peixes alguns cuidados são necessários como a limpeza das incubadoras. De acordo com Silva (2004) a retirada de ovos mortos e membranas de ovos após a eclosão das larvas evita a proliferação de fungos e bactérias. Os sólidos em suspensão como a argila, também, devem ser tirados da água, pois aderem na membrana do ovo, dificultando as trocas iônicas e gasosas do ovo com a água.

Além da limpeza das incubadoras, alguns parâmetros devem ser monitorados como: a vazão, aeração, temperatura e pH. Para a espécie *Rhamdia quelen* é recomendada vazão de 0,8 a 5 L min⁻¹ em incubadoras do tipo Zoug (20 L), aeração em torno de 6 a 8 mg L⁻¹,

temperatura de 24 °C e pH básico (FERREIRA et al., 2001; LONGO; NUÑER, 2010; SULIS-COSTA et al., 2013).

2.3 Microrganismos prejudiciais durante a incubação artificial de ovos de peixes

Um dos entraves da incubação artificial são os microrganismos nocivos presentes no meio de cultivo. Utiliza-se para eliminação dos agentes patogênicos, produtos químicos como, verde de malaquita, formalina, peróxido de hidrogênio, permanganato de potássio e iodo. Porém, sabe-se que a utilização de agentes químicos na água podem contaminar os ambientes aquáticos e ter efeitos acumulativo e carcinogênico (CELADA et al., 2006).

Os ovos de peixe apresentam uma membrana gelatinosa envolvente que os protege de choques mecânicos, ataque de predadores e parasitas (BALDISSEROTTO; NETO, 2013). Os ovos podem ainda ser atacados por bactérias, fungos e componentes do zooplâncton (ZANIBONI-FILHO, 2000).

A principal preocupação dos piscicultores é a Saprolegniose, infecção causada por oomicetos, normalmente, presentes nas unidades de cultivo, tornando-se uma ameaça para o desenvolvimento dos ovos. Estes oomicetos pertencem à classe dos Ficomycetos, família Saprolegniaceae, destacando-se os gêneros *Saprolegnia*, *Achlya* e *Dictyuchus*, conhecido como mofo aquático. O fungo ataca primeiramente os ovos mortos formando hifas que crescem e prendem os ovos viáveis causando a sua morte (PAVANELLI et al., 2008). A infecção por fungos pode causar grandes perdas na produção, pois os ovos infectados contaminam rapidamente os ovos saudáveis (ABDEL-HADI et al., 2008).

A proliferação de colônias de bactérias pode atacar a membrana dos ovos. Essa proliferação ocorre quando há uma alta concentração de matéria orgânica na água, que serve de substrato para as bactérias (PAVANELLI et al., 2008). As perdas de ovos por doenças virais podem ocorrer quando os pais forem portadores assintomáticos de alguma doença estando aparentemente sadios (BRANDÃO, 2004).

2.4 Produtos utilizados em incubadoras de ovos de peixes

A utilização de produtos na água de incubação tem como finalidade eliminar microrganismos que afetam a qualidade do ovo ou causam a sua morte. Normalmente, são utilizados os seguintes produtos químicos na água: verde de malaquita, formalina, peróxido de hidrogênio, permanganato de potássio, ácido acético e iodo povidine (FUANGSAWAT et al., 2011).

A utilização de produtos nas incubadoras de peixes apresenta, principalmente, ação fungicida. De acordo com Rach et al. (1997) a incubação artificial de ovos de peixes é dependente de produtos químicos, para o controle de doenças fúngicas, destacando-se o formol, como um dos produtos mais utilizados. É comprovada a eficiência da formalina em combater, *in vitro*, o fungo *Saprolegnia* spp. em ovos de peixes (AKPOILIH; ADEBAYO, 2010; CÔRREA et al., 2013).

O cloro, também, é utilizado para desinfetar a água da incubação, porém, antes de utilizar a água tratada com o cloro, esta deve ser exposta ao sol por 24 horas para que o cloro evapore totalmente. Este cuidado é necessário devido ao cloro ter efeito carcinogênico e possuir alto poder corrosivo (BRANDÃO, 2004).

Os antibióticos são atualmente foco de maior atenção dos órgãos fiscalizadores em pisciculturas, por causarem resistência bacteriana, deixarem resíduos nos alimentos e preocupação com a saúde pública (CHAKRABORTY; HANCZ, 2011). As principais críticas em torno dos produtos terapêuticos são a presença de resíduos na água, sedimento e pescado, toxicidade em organismos não alvos como plantas, crustáceos e até peixes selvagens, potencial carcinogênico para manipuladores e consumidores, e resistência bacteriana (SAPKOTA et al., 2008; RICO et al., 2013; RICO; BRINK, 2014). Neste contexto, os extratos de plantas estão sendo muito estudados, por conterem propriedades profiláticas ou terapêuticas para algumas enfermidades em piscicultura (TAVECHIO et al., 2009).

Diversos pesquisadores têm sido estimulados a encontrar soluções para os problemas sanitários atuais da aquicultura. Algumas das estratégias para o controle e prevenção de doenças em peixes buscam o desenvolvimento de produtos profiláticos como dietas imunoestimulantes (SKALLI et al., 2013), sendo que vários fitoterápicos têm mostrado resultados promissores na profilaxia de doenças e melhora de resposta imunológica, enquanto que os produtos químicos utilizados contra patógenos apresentam eficácia duvidosa e difícil tratamento (CARUANA et al., 2012).

2.5 Atividade antimicrobiana dos produtos naturais

Todas as plantas produzem metabólitos primários, que são compostos essenciais para o seu metabolismo, porém, somente algumas produzem os metabólitos secundários, estes irão compor os princípios ativos das plantas (HASHEMI; DAVOODI, 2011).

Segundo Santos et al. (2009) os extratos de plantas são bastante utilizados em dietas de peixes, sendo que sua eficácia irá depender das diferentes formas de ação no organismo dos espécimes, das concentrações, dos princípios ativos e quantidades adicionadas às rações.

Os princípios ativos das plantas podem ter propriedades anticarcinogênicas, anti-inflamatórias, antioxidante (SANTHOSHA et al., 2013), imunoestimulante e antimicrobiana (CARVALHO, 2004).

Alguns princípios ativos de plantas estão apresentados na Tabela 1. Segundo Reverter et al. (2014) e Wendler (2006) as saponinas, taninos, flavonóides, mucilagens, glucosídeos, alcaloides, compostos fenólicos e polifenólicos, quinonas, flavonas; cumarinas, substâncias sulfurosas; terpenos, sesquiterpenos e diterpenos, triterpenos e esteróides, e óleos essenciais, são exemplos de princípios ativos com propriedades antimicrobianas.

Tabela 1. Princípio ativo de plantas e suas propriedades biológicas

Espécie	Princípio ativo	Propriedades
<i>Curcuma longa</i> (Açafrão da Índia)	Curcumina	Antioxidante, anti-inflamatório e antifúngico
<i>Rosmarinus officinalis</i> (Alecrim)	Cineol, rosmarinol, rosmaricina, timol	Antibacteriano e antioxidante
<i>Allium sativum</i> (Alho)	Alicina, ajoeno	Antisséptico e antibacteriano
<i>Peumus boldus</i> (Boldo do Chile)	Boldina, eucaliptol, ascaridol, pneumosídeo, cinaldeído	Antioxidante
<i>Cinnamomum</i> spp. (Canela)	Eugenol, linalol	Antibacteriano e antioxidante
<i>Cuminum cyminum</i> (Cominho)	Cuminaldeído, γ -terpine	Antibacteriano
<i>Syzygium</i> spp. (Cravo)	Eugenol	Antibacteriano e Antifúngico
<i>Zingiber officinalis</i> (gengibre)	Cingerol	Antibacteriano
<i>Laurus nobilis</i> (Louro)	Cineol	Antisséptico
<i>Origanum</i> spp. (Orégano)	Carvacrol, timol, caryone, γ - terpine, p-cimene	Antifúngico
<i>Capsicum</i> spp. (Pimenta vermelha/preta)	Capsaicina, piperina	Anti-inflamatório e antibacteriano
<i>Thymus</i> spp. (Tomilho)	Timol, carvacrol, p-cimene, geraniol	Antibacteriano, antifúngico e antioxidante
<i>Salvia</i> spp. (Sálvia)	Cineol, pineno, salviol	Antibacteriano, antifúngico e antioxidante
<i>Vitis vinifera</i> (Semente de uva)	Antocianinas, flavanas, catequina, epicatequina,	Antioxidante, antibacteriano, antiviral e anti-inflamatório

Fonte: Adaptado de Burt (2004); Ceylan e Fung (2004) e Butolo (2005)

2.5.1 Atividade antimicrobiana dos produtos naturais em peixes

Produtos derivados de plantas parecem representar uma promissora fonte de moléculas bioativas, sendo ao mesmo tempo prontamente disponível, econômico e biocompatível. Pesquisas com extratos de plantas adicionados à ração para peixes têm mostrado inúmeros benefícios como, estimulante da digestão, alteração da microbiota intestinal, melhora na absorção dos nutrientes, antioxidantes, imunoestimulantes e antimicrobianos (WU et al., 2007; ALY; MOHAMED, 2010). Alguns exemplos de plantas com propriedades antimicrobianas e imunoestimulantes estão descritos na Tabela 2.

Tabela 2. Princípio ativo e propriedades antimicrobianas, antiparasitárias e imunoestimulantes de diferentes espécies vegetais

Extrato vegetal	Efeito	Espécie	Referência
<i>Allium sativum</i> (alho)	Imunoestimulante	<i>Oreochromis niloticus</i>	Ndong e Fall (2011)
	Imunoestimulante	<i>Oreochromis niloticus</i>	Aly et al. (2010)
	Imunoestimulante	<i>Huso huso</i>	Nobahar et al. (2014)
	Imunoestimulante	<i>Clarias gariepinus</i>	Nwabueze (2012)
	Imunoestimulante	<i>Oreochromis niloticus</i>	Diab et al (2008)
	Antifúngico	<i>Cyprinus carpio</i> <i>Hypophthalmichthys molitrix</i>	Abdel-Habi et al (2008)
	Antiparasitário	<i>Onchorinchus mykiss</i>	Nya et al. (2010)
<i>Andrographis paniculata</i> (kirata)	Antiparasitário	<i>Lates calcarifer</i>	Militz et al. (2013)
<i>Psidium guajava</i> (goiaba)	Imunoestimulante	<i>Cyprinus carpio</i>	Wu et al. (2007)
<i>Magnifera indica</i> (manga)	Imunoestimulante	<i>Labeo rohita</i>	Chansue et al. (2007)
<i>Terminalia catappa</i> (amendoeira da praia)	Imunoestimulante	<i>Labeo rohita</i>	Sahu et al. (2007)
<i>Achyranthes áspera</i> (carrapicho)	Antiparasitário	<i>Oreochromis niloticus</i>	Chitmanat et al. (2005)
<i>Aloe vera</i> (babosa)	Antibacteriano	<i>Labeo rohita</i>	Vasudeva et al. (2006)
	Antibacteriano	<i>Sebastes schlegeli</i>	Kim et al. (1999)

Fonte: Adaptado de Boijink (2010)

A utilização de produtos naturais em peixes é uma prática bastante antiga, principalmente nos países asiáticos. Atualmente os chineses cultivam plantas para manter o comércio de produtos naturais para peixes (INOUE et al., 2010).

Os produtos naturais antimicrobianos utilizados para peixes têm ação profilática e terapêutica, podendo ser adicionados à dieta, utilizados para aplicação em tanques, via oral, banho, *spray* ou injeção (BOIJINK et al., 2010). Segundo Santos et al. (2009) a eficácia da utilização dos extratos de plantas em dietas de peixes irá depender das diferentes formas de ação no organismo animal, das concentrações, dos princípios ativos e quantidade adicionadas às rações.

2.5.2 Produtos naturais utilizados em ovos de peixes

Os trabalhos com produtos naturais em ovos de peixes constam de experimentos *in vitro* e *in vivo*, porém, ainda são escassos. Caruana et al. (2012) obtiveram, em experimento *in vitro*, significativa inibição do crescimento do fungo *Saprolegnia australis* com os extratos de *Rumex obtusifolius* (língua de vaca), *Sophora flavescens* (sophora), *Echinacea angustifolia* (echinacea) e *Zingiber officinale* (gengibre).

Com experimento *in vivo* utilizando a combinação de quatro óleos essenciais, *Thymus vulgaris* (tomilho), *Salvia officinalis* (sálvia), *Eucalyptus globulus* (eucalipto) e *Mentha piperita* (hortelã-pimenta) Mousavi et al. (2009), conseguiram resultados satisfatórios, para a redução da porcentagem de ovos de truta-arco-íris infectados com fungo *Saprolegnia* sp. Em seu trabalho Abdel-Hadi et al. (2008) comprovaram a eficácia e determinaram a dose letal do extrato de alho em ovos de carpa comum contaminados pelo fungo *Saprolegnia* sp.

Caruana et al. (2012) obtiveram resultados satisfatórios ao testarem *in vitro* o efeito de cinco extratos de plantas sobre ovos de tilápia do Nilo contaminados com o fungo causador da saprolegniose. Porém, os estudos com a aplicação de extratos naturais para o tratamento de ovos e larvas de peixes em sistemas intensivos de reprodução são escassos.

Dentre as plantas medicinais, o alho destaca-se por possuir compostos sulfurados e bioflavonóides presentes na parte bulbônica, como, principais, a alicina e o ajoeno (LEE; GAO, 2012). Estes compostos possuem ação antiviral, antifúngica e antibacteriana (SANTHOSHA et al., 2013).

2.6 Alho (*Allium sativum* L.)

O alho (*Allium sativum*) é uma planta perene pertencente à família Liliacea, conhecido como agente medicinal terapêutico e profilático muito potente utilizado em muitas culturas.

Os componentes fitoterápicos do alho estão localizados no bulbo, este é constituído pelo conjunto de bulbilhos que se formam pelo desenvolvimento das gemas do caule, sendo recobertos por folhas escamiformes (Figura 1). Esta planta herbácea pode chegar a 60 cm de altura (BANERJEE; MAULIK, 2002).



Figura 1. Aspecto geral da planta (*Allium sativum*)

Fonte: www.iccs.edu

A utilização do alho na dieta e na medicina tem sido preservada durante séculos devido a seus compostos organosulfurados e bioflavonóides que atuam contra parasitas e na prevenção e cura de doenças (LEE; GAO, 2012), sendo a alicina e o ajoeno os principais produtos derivados dos compostos sulfurados voláteis (SANTHOSHA et al., 2013).

O óleo essencial do alho é proveniente dos bulbos da hortalica, com rendimento de 0,1 a 0,2%. É composto de substâncias voláteis naturais e lipofílicas, sendo a técnica de arraste a vapor, a mais utilizada para obtenção deste óleo. Santos et al. (2004) e Liu et al. (2005) ao analisarem a composição química do óleo essencial de alho, encontraram como principais componentes o dissulfeto de dialila (38,6%), trissulfeto de dialila (30,8%) e sulfeto de dialila (10,0%).

A alicina é um composto bioativo, instável, com odor forte característico, possui ação antiviral, antifúngica e antibacteriana. É produzida com a trituração dos bulbilhos, que provoca a transformação da aliina, através da ação da enzima alinase, em alicina (CARVALHO, 2004). A Figura 2 apresenta os principais constituintes químicos sulfurados do alho (OLIVEIRA et al., 2014).

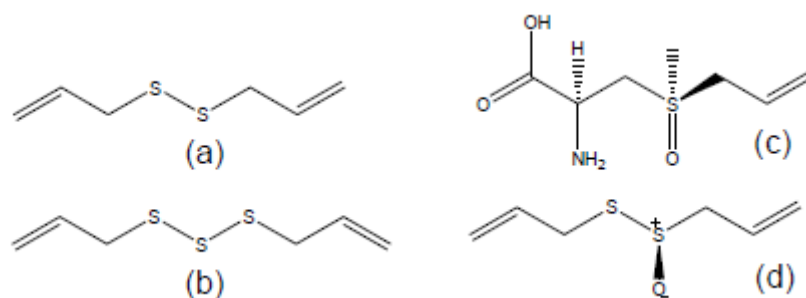


Figura 2. Principais constituintes químicos do alho (a) dissulfeto de dialila, (b) trissulfeto de dialila, (c) aliina (dialil tiosulfonato) e (d) alicina.

Além dos compostos sulfurados, o alho apresenta em sua composição química, proteínas, minerais, vitaminas (Tabela 3) e óleo essencial.

Tabela 3. Composição centesimal do alho *in natura*

Energia (kcal)	113,00	Manganês (mg)	21,00
Proteína (g)	7,00	Sódio (mg)	5,00
Lipídeos (g)	0,12	Potássio (mg)	535,00
Cálcio (mg)	14,00	Cobre (mg)	0,15
Magnésio (mg)	21,00	Zinco (mg)	0,80
Fósforo (mg)	149,00	Tiamina (µg)	0,18
Ferro (mg)	0,80	Piridoxina (µg)	0,44

Fonte: Adaptado de UNICAMP (2011).

Na aquicultura o alho promove o crescimento, estimula o apetite, melhora o sistema imune, reforça o controle de bactérias e fungos nos animais (SHALABY et al., 2006). Pesquisas têm utilizado o alho para eliminar as principais bactérias em peixes de água doce (LEE; GAO, 2012), e a sua utilização vem sendo indicada em pisciculturas de diversos países para diferentes espécies de peixes (INOUE; BOJINK; CHAVES, 2010).

Chitmanat et al. (2005) concluíram, por meio de ensaios de laboratório, que o extrato de alho pode ser utilizado como uma alternativa aos produtos químicos para controlar *Trichodina* sp. em alevinos de tilápias. A alicina aumentou a atividade fagocítica e preveniu doenças causadas por *Aeromonas hydrophila* em alevinos de truta arco-íris (NYA et al., 2010). Dietas suplementadas com alho e equinácea (*Echinacea purpurea*) para tilápia melhoraram a taxa de sobrevivência e a resistência, apresentando efeito prolongado dos

produtos (ALY; MOHAMED, 2010). O alho preveniu infestação por *Neobenedenia* sp. em *Lates calcarifer* (MILITZ et al., 2013).

Segundo Lu et al. (2012) estudos com produtos naturais em pisciculturas tornam-se necessários, pois o mercado está cada vez mais exigente em relação a qualidade e sustentabilidade do produto, com isso, os piscicultores estão tendo que se adequar aos novos parâmetros do mercado como, qualidade, segurança, eliminação de poluentes, concomitantes, antibióticos e agentes cancerígenos durante as atividades aquícolas.

Neste contexto são necessários estudos que definam as dosagens e os possíveis efeitos tóxicos do óleo essencial de alho nos ovos e larvas de jundiá, para que haja maior eficiência dos processos reprodutivos, garantindo melhores taxas de fertilização e eclosão dos ovos, e contribua para redução de danos ao ambiente e custos de produção de alevinos.

REFERÊNCIAS

- ABDEL-HADI, Y.M.; SALEH, O.A.; AKAR, A.M. Study on the use of *Artemisia cina* L. (wormseed plants) and *Allium sativum* (garlic) in the control of Saprolegniosis in egg of *Cyprinus carpio* (common carp) and *Hypophthalmichthys molitrix* (silver carp). In: MALAYSIAN SYMPOSIUM ON MICROBIOLOGY (MSM), 30., 2008, **Anais...** Kuantan, Malaysia, 2008, p.571-573.
- AKPOILIH, B.U; ADEBAYO, O.T. Effect of formalina on the hatching rate of eggs and survival of larvae of the African catfish (*Clarias gariepinus*). **Journal of Applied Science and Environmental Management**, v.14, n.4, p.31-34, 2010.
- ALY, S.M.; MOHAMED, M.F. *Echinacea purpurea* and *Allium sativum* as immunostimulants in fish culture using Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **The Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v.94, n.5, p.31-39, 2010.
- ANDRADE, E.S.; ANDRADE, E.A.; FELIZARDO, V.O.; PAULA, A.J.; VERAS, G.C.; MURGAS, L.D.S. Biologia reprodutiva de peixes de água doce. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.39, n.1, p.195-201, 2015.
- BALDISSEROTTO, B.; NETO, J.R. Jundiá (*Rhamdia* sp.). Reprodução e larvicultura In: BALDISSEROTTO, B.; GOMES, L.C. (Eds). **Espécies nativas para piscicultura no Brasil**. Santa Maria: Ed. UFSM, 2013. p.305-306.
- BANERJEE, S.K.; MAULIK, S. Effect of garlic on cardiovascular disorders: a review. **Nutrition Journal**, v.1, n.4, p.1-14, 2002.
- BARCELLOS, L.J.G.; QUEVEDO, R.M.; SILVA, L.B. Policultivo. As espécies propostas. In: BARCELLOS, L.J.G.; FAGUNDES, M. (Eds.) **Policultivo de jundiás, tilápias e carpas**. 2. ed. Passo Fundo: Ed. Universidade de Passo Fundo, 2012. p.97-98.
- BOBE, J.; LABBÉ, C. Egg and sperm quality in fish. **General and Comparative Endocrinology**, v.165, n.3, p.535-548, 2010.
- BOJINK, C.L.; INOUE, L.A.A.K.; CHAGAS, E.; CHAVES, F.C.M. Plantas medicinais como imunoestimulantes para peixes. In: SIMPÓSIO SOBRE INOVAÇÃO E CRIATIVIDADE CIENTÍFICA NA EMBRAPA, 2., 2010, Manaus. **Anais...** Manaus: Embrapa Amazônia Ocidental, 2010.
- BRANDÃO, D.A. Profilaxia e doenças. In: BALDISSEROTTO, B.; NETO, J.R. (Eds). **Criação de jundiá**. Santa Maria: Ed. da UFSM, 2004. p.164-167.
- BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods - a review. **International Journal of Food Microbiology**, v.94, n.4, p.223-253, 2004.
- BUTOLO, J.E. Alimentos funcionais. In: SIMPÓSIO DE NUTRIÇÃO E SAÚDE DE PEIXES, 1., 2005, Botucatu. **Anais...** Botucatu: UNESP, 2005. p.1-13.

- CARUANA, S.; YOON, G.H.; FREEMAN, M.A.; MACKIE, J.A.; SHINN, A.P. The efficacy of selected plant extracts and bioflavonoids in controlling infections of *Saprolegnia australis* (Saprolegniales; Oomycetes). **Aquaculture**, v.358-359, p.146-154, 2012.
- CARVALHO, J.C.T. Constituintes de plantas com atividade anti-inflamatória. In: **Fitoterápicos anti-inflamatórios - Aspectos químicos, farmacológicos e aplicações terapêuticas**. Ribeirão Preto: Tecmedd, 2004. Cap.5, p.68-75.
- CELADA, J.D.; MELENDRE, P.M.; CARRAL, J.M.; SÁEZ-ROYUELA, M.; AGUILERA, A. Effectiveness of antifungal treatments during artificial incubation of the signal crayfish eggs (*Pacifastacus leniusculus* Dana. Astacidae). **Aquaculture**, v.257, n.1-4, p.257-265, 2006.
- CEYLAN, E.; FUNG, D.Y.C. Antimicrobial activity of spices. **Journal of Rapid Methods and Automation in Microbiology**, v.12, n.1, p.1-55, 2004.
- CHANSUE, N. Antimicrobial effects of guava leaf (*Psidium guajava*) extract against *Aeromonas hydrophila* in fancy carp (*Cyprinus carpio*). **Songklanakarin Journal of Science and Technology**, v.29, n.1, p.69, 2007.
- CHAKRABORTY, S.B.; HANCZ, C. Application of phytochemicals as immunostimulant, antipathogenic and antistress agents in finfish culture. **Reviews in Aquaculture**, v.3, n.3, p.103-119, 2011.
- CHITMANAT, C.; TONGDONMUAN, K.; NUNSONG, W. The use of crude extracts from traditional medicinal plants to eliminate *Trichodina* sp. in tilapia (*Oreochromis niloticus*) fingerlings. **Songklanakarin Journal of Science and Technology**, v.27, n.(Suppl.1), p.359-364, 2005.
- CÔRREA, B.F.; STOHL, F.E.; ROBALDO, R.B.; PEREIRA, D.I.B. Efeito *in vitro* de químicos no crescimento micelial de *Saprolegnia* spp. **Ciência Rural**, v.43, n.6, p.1021-1024, 2013.
- DIAB, A.S.; ALY, S.M.; JOHN, G.; ABDE-HADI, Y.; MOHAMMED, M.F. Effect of garlic, blackseed and Biogen as immunostimulants on the growth and survival of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (Teleostei: Cichlidae), and their response to artificial infection with *Pseudomonas fluorescens*. **African Journal of Aquatic Science**, v.33, n.1, p.63-68, 2008.
- EL-SAYED, A.F.M. **Tilapia culture**. Oxfordshire: CABI Publishing, Wallingford, 2006. 277p.
- FERREIRA, A.A.; NUÑER, A.P.O.; ESQUIVEL, J.R. Influência do pH sobre ovos e larvas de jundiá, *Rhamdia quelen*, (Osteichthyes, Siluriformes). **Acta Scientiarum: Biological Sciences**, v.23, n.2, p.477-481, 2001.
- FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAO). The State of World fisheries and aquaculture 2014. Rome: FAO, 2014. Fisheries and Aquaculture Department. Disponível em: <<http://www.fao.org/fishery/statistics>>. Acessado em: 10 jun. 2015.

- FUANGSAWAT, W.; ABKING, N.; LAWHAVINIT, O.A. Sensitivity comparison of pathogenic aquatic fungal hyphae to sodium chloride, hydrogen peroxide, acetic acid and povidone iodine. **Kasetsart Journal of Natural Science**, v.45, n.1, p.84-89, 2011.
- GHIRALDELLI, L.; MACHADO, C.; FRACALOSSO, D.M.; ZANIBONI-FILHO, E. Desenvolvimento gonadal do jundiá, *Rhamdia quelen* (Teleostei, Siluriformes), em viveiros de terra, na região sul do Brasil. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v.29, n.4, p.349-356, 2007.
- HARIKRISHNAN, R.; BALASUNDARAM, C.; HEO, M.S. Impact of plant products on innate and adaptive immune system of cultured finfish and shellfish. **Aquaculture**, v.317, n.1-4, p.1-15, 2011.
- HASHEMI, S.R.; DAVOODI, H. Herbal plants and their derivatives as growth and health promoters in animal nutrition. **Veterinary Research Communications**, v.35, n.2, p.169-180, 2011.
- INOUE, L.A.K.A.; BOIJINK, C.L.; CHAVES, F.C.M. Plantas medicinais são avaliadas no tratamento de doenças de peixes. EMBRAPA, 2010. Disponível em: <www.cpa.embrapa.br/.../Plantas%20medicinais%20sao%20avaliadas%20>. Acesso em: 23 abr. 2015.
- KIM, K.H.; HWANG, Y.J.; BAI, S.C. Resistance to *Vibrio alginolyticus* in juvenile rockfish (*Sebastes schlegelii*) fed diets containing different doses of aloe. **Aquaculture**, v.180, n.1-2, p.13-21, 1999.
- LEE, J.Y.; GAO, Y. Review of the application of garlic, *Allium sativum*, in aquaculture. **Journal of the World Aquaculture Society**, v.43, n.4, p.447-458, 2012.
- LIU, C.T.; HSE, H.; LII, C.K.; CHEN, P.S.; SHEEN, L.Y. Effects of garlic oil and diallyl trisulfide on glycemic control in diabetic rats. **European Journal of Pharmacology**, v.516, n.2, p.165-173, 2005.
- LONGO, R.S.; NUÑER, A.P.O. Temperatures for fertilization and hatching and their influence on determining the sex ratio of the silver catfish, *Rhamdia quelen*. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v.32, n.2, p.107-111, 2010.
- LU, C.; LUO, X.; LUO, R.; CHEN, X.; XING, L.; TANG, Z.; LI, H. Assessment of antibacterial properties and the active ingredient of plant extracts and its effect on the performance of crucian carp (*Carassius auratus gibelio* var. E'ergisi, Bloch). **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.93, n.4, p.902-909, 2012.
- MILITZ, T.A.; SOUTHGATE, P.C.; CARTON, A.G.; HUTSON, K.S. Dietary supplementation of garlic (*Allium sativum*) to prevent monogenean infection in aquaculture. **Aquaculture**, v.408-409, p.95-99, 2013.
- MOUSAVI, S.M.; MIRZAGAR, S.S.; MOUSAVI, H.E.Z.; BAIGI, R.O.; KHOSRAVI, A.; BAHONAR, A.; AHMADI, M.R. Evaluation of activity of new combined essential oils

in comparison with malachite green on hatching rate in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) eggs. **Journal of Fisheries and Aquatic Science**, v.4, n.2, p.103-110, 2009.

NOBAHAR, Z.; GHOLIPOUR-KANANI, H.; KAKOOLAKI, S.; JAFARYAN, H. Effect of garlic (*Allium sativum*) and nettle (*Urtica dioica*) on growth performance and hematological parameters of beluga (*Huso huso*). **Iranian Journal of Aquatic Animal Health**, v.1, n.1, p.63-69, 2014.

NDONG, D., FALL, J. The effect of garlic (*Allium sativum*) on growth and immune responses of hybrid tilapia (*Oreochromis niloticus* x *Oreochromis aureus*). **Journal of Clinical Immunology and Immunopathology Research**, v.3, n.1, p.1-9, 2011.

NWABUEZE, A.A. The effect of garlic (*Allium sativum*) on growth and haematological parameters of *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822). **Sustainable Agriculture Research**, v.1, n.2, p.222-228, 2012.

NYA, E.J.; DAWOOD, Z.; AUSTIN, B. The garlic component, allicin, prevents disease caused by *Aeromonas hydrophila* in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). **Journal of Fish Diseases**, v.33, n.4, p.293-300, 2010.

NOGA, E. J. **Fish disease: diagnosis and treatment**. 2nd. ed. USA: Wiley- Blackwell, 2010. 536p.

OLIVEIRA, V.E.; BRAZ, C.; REIS, F.D.; GATTI, I.C.; OLIVEIRA, L.F.C. .Investigação Raman da estabilidade de marcadores organossulfurados funcionais presentes no alho (*Allium sativum* L.). In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA. SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA, 37., 2014, Natal. **Anais...** Natal: Sociedade Brasileira de Química, 2014.

PAVANELLI, G.C.; EIRAS, J.C.; TAKEMOTO, R.M. **Doenças de peixes**, 3. ed. Maringá: EDUEM, 2008. 265p.

RACH, J.J.; HOWE, G.E.; SCHREIER, T.M. Safety of formalin treatments on warm- and cool water fish eggs. **Aquaculture**, v.149, n.3-4, p.183-191, 1997.

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

RICO, A.; PHU, T.M.; SATAPORNVANIT, K.; MIN, J.; SHAHABUDDIN, A.M.; HENRIKSSON, P.J.; MURRAY, F.J.; LITTLE, D.C.; DALSGAARD, A.; VAN DEN BRINK, P.J. Use of veterinary medicines, feed additives and probiotics in four major internationally traded aquaculture species farmed in Asia. **Aquaculture**, v.412, p.231-243, 2013.

RICO, A.; VAN DEN BRINK, P.J. Probabilistic risk assessment of veterinary medicines applied to four major aquaculture species produced in Asia. **Science of the Total Environment**, v.468-469, p.630-641, 2014.

- SAHU, S.; DAS, B.K.; PRADHAN, J.; MOHAPATRA, B.C.; MISHRA, B.K.; SARANGI, N. Effect of *Magnifera indica* kernel as a feed additive on immunity and resistance to *Aeromonas hydrophila* in *Labeo rohita* fingerlings. **Fish & Shellfish Immunology**, v.23, n.1, p.109-118, 2007.
- SANTHOSHA, S.G.; PRAKASH JAMUNA, S.N.; PRABHAVATHI. Bioactive components of garlic and their physiological role in health maintenance: A review. **Food Bioscience**, v.3, n.9, p.59-74, 2013.
- SANTOS, A.S.; ALVES, S.M.; FIGUEIREDO, F.J.C.; NETO, O.G.R. Descrição de sistema e de métodos de extração de óleos essenciais e determinação de umidade de biomassa em laboratório. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2004, p.1-6 (Comunicado Técnico, 99).
- SANTOS, E.L.; LUDKE, M.C.M.M.; LIMA, M.R. Extratos vegetais como aditivos em rações para peixes. **Revista Eletrônica Nutritime**, v.6, n.1, p.789-800, 2009.
- SAPKOTA, A.; SAPKOTA, A.R.; KUCHARSKI, M.; BURKE, J.; MCKENZIE, S.; WALKER, P.; LAWRENCE, R. Aquaculture practices and potential human health risks: current knowledge and future priorities. **Environment International**, v.34, n.8, p.1215-1226. 2008.
- SKALLI, A.; CASTILLO, M.; ANDREE, K.B.; TORT, L.; FURONES, D.; GISBERT, E. The LPS derived from the cell walls of the Gram-negative bacteria *Pantoea agglomerans* stimulates growth and immune status of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) juveniles. **Aquaculture**, v.416, p.272-279. 2013.
- SHALABY, A.M.; KHATTAB, Y.A.; ABDEL RAHMAN, A.M. Effects of garlic (*Allium sativum*) and chloramphenicol on growth performance, physiological parameters and survival of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases**, v.12, n.2, p.172-201, 2006.
- SILVA, L.V.F. Incubação e larvicultura. In: BALDISSEROTTO, B.; NETO, J.R. (Eds). **Criação de jundiá**. Santa Maria: Ed. UFSM, 2004. p.107-109.
- SULIS-COSTA, R.; JIMENEZ, J.E.; WEINGARTNER, M.; NUÑER, A.P.O. Efeito da temperatura da água na fase inicial de vida e na proporção sexual do jundiá. **Boletim do Instituto de Pesca**, v.39, n.4, p.379-388, 2013.
- SYAHIDAH, A.; SAAD, C.R.; DAUD, H.M.; ABDELHADI, Y.M. Status and potential of herbal applications in aquaculture: a review. **Iranian Journal of Fisheries Sciences**, v.14, n.1, p.27-44, 2015.
- TAVECHIO, W.L.G.; GUIDELLI, G.; PORTZ, L. Alternativas para a prevenção e o controle de patógenos em piscicultura. **Boletim do Instituto de Pesca**, v.35, n.2, p.335-341, 2009.
- UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS - UNICAMP. **Tabela Brasileira de composição de alimentos**. 4. ed. Campinas: NEPA-UNICAMP, 2011.161p.

- VADSTEIN, O.; MO, T.A.; BERGH, O. Microbial interactions, prophylaxis and diseases. In: MOKSNESS, E.; KJORSVIK, E.; OLSEN, Y. (Eds). **Culture of cold-water marine fish**. Oxford: Blackwell Publishing, 2004. p.28-72.
- VASUDEVA, R.Y.; DAS, B.K.; JYOTYRMAYEE, P.; CHAKRABARTI, R. Effect of *Achyranthes aspera* on the immunity and survival of *Labeo rohita* infected with *Aeromonas hydrophila*. **Fish & Shellfish Immunology**, v.20, n.3, p.263-273, 2006.
- WENDLER, K.R. Botânicos, da medicina tradicional a melhoradores de desempenho na produção animal. In: CONGRESSO LATINO-AMERICANO DE SUINOCULTURA, 3., 2006, Foz do Iguaçu. **Anais...** Foz do Iguaçu: Pork Expo, 2006. p.213-224.
- WOYNAROVICH, E.; HORVATH, L. **A propagação artificial de peixes de águas tropicais**: manual de extensão. Brasília: FAO: CODEVASF: CNPq, 1983. 220p.
- WU, G.; YUAN, C.; SHEN, M.; TANG, J.; GONG, Y.; LI, D.; SUN, F.; HUANG, C.; HAN, X. Immunological and biochemical parameters in carp (*Cyprinus carpio*) after Qompsell feed ingredients for long-term administration. **Aquaculture Research**, v.38, n.3, p.246-255, 2007.
- ZANIBONI-FILHO, E. Larvicultura de peixes de água doce. **Informe Agropecuário**, v.21, n.203, p.69-77, 2000.

3 UTILIZAÇÃO DE ÓLEO ESSENCIAL DE ALHO NA INCUBAÇÃO ARTIFICIAL DE OVOS DE *Rhamdia quelen*

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da utilização do óleo essencial de alho (*Allium sativum*) sobre as taxas de fertilidade, eclosão e normalidade das larvas de ovos de jundiá, *Rhamdia quelen*, incubados artificialmente. Foram realizados dois experimentos (I e II) utilizando delineamento experimental inteiramente casualizado com quatro tratamentos e cinco repetições. Os tratamentos consistiram na introdução de óleo essencial de alho nas incubadoras, utilizando um sistema fechado de recirculação de água, com os níveis de 0; 5; 10 e 20 e 0; 1; 3 e 5 mg L⁻¹ de óleo essencial de alho, respectivamente para o experimento I e II. As taxas de fertilização e eclosão foram determinadas, respectivamente as 10 e 24 h após o início da hidratação dos ovos. Utilizou-se do padrão morfológico de larvas para determinar a taxa de normalidade, com o auxílio de um microscópio estereoscópio. No experimento I a dosagem 5 mg L⁻¹ promoveu maiores ($p<0,05$) taxas de fertilização e eclosão dos ovos. Nos níveis 10 e 20 mg L⁻¹ houve morte de todos os embriões nas primeiras 10 h após a fecundação. No experimento II a dosagem de 5 mg L⁻¹ promoveu melhores taxas de fertilização ($p<0,01$) e eclosão ($p<0,05$) em relação às demais concentrações de óleo essencial de alho. As taxas de fertilização e eclosão variaram de 65,80 a 83,70% e 57,60 a 71,40%, respectivamente. Os níveis de óleo essencial de alho apresentaram efeito linear sobre as taxas de fertilização ($p<0,01$) e eclosão ($p<0,05$). O óleo de alho não influenciou na normalidade das larvas ($p>0,05$). Recomenda-se utilizar 5 mg L⁻¹ de óleo essencial de alho para promover melhores taxas de fertilização e eclosão de ovos de jundiá incubados artificialmente.

Palavras-chave: *Allium sativum*, antimicrobianos, eclodibilidade, ovos e larvas de jundiá

THE UTILIZATION OF GARLIC ESSENTIAL OIL ON THE ARTIFICIAL INCUBATION OF *Rhamdia quelen* EGGS

ABSTRACT

The objective of this work is to evaluate the effect of garlic essential oil (*Allium sativum*) on the fertility rate and hatching of silver catfish eggs, *Rhamdia quelen*, artificially incubated. Two experiments (I and II) were realized using randomly experimental design with the four treatments and five repetitions. The treatments consisted on the introduction of garlic essential oil on the incubators of fish eggs with the levels of 0; 5; 10 and 20 and 0; 1; 3 and 5 mg L⁻¹ of oil, on experiments I and II respectively. The fertilization and hatching rates were determined respectively 10 and 24 h after start of hydration of the eggs. It used the standard morphological larvae to determine the normal rate, with the aid of a stereoscopic microscope. On the experiment I the dosage of 5 mg L⁻¹ promoted the biggest ($p<0.05$) rates of fertilization and hatching of the eggs. At levels of 10 and 20 mg L⁻¹ was death from all embryos within 10h after fertilization. In the second experiment the dosage of 5 mg L⁻¹ promoted best fertilization rates ($p<0.01$) and hatching ($p<0.05$) compared to other essential oil concentrations of garlic. The fertilization and hatching rates ranged from 65.80 to 83.70% and 57.60 to 71.40% respectively. The essential garlic oil levels showed linear effect on the fertilization rates ($p<0.01$) and hatching ($p<0.05$). Garlic oil did not influence the normal larvae ($p<0.05$). It is recommended to use 5 mg L⁻¹ essential oil of garlic to promote better rates of fertilization and hatching of silver catfish eggs artificially incubated.

Key words: *Allium sativum*, antimicrobial, hatchability, catfish eggs and larvae

3.1 Introdução

A incubação artificial permite que os ovos fiquem protegidos e independe de condições ambientais não controladas, proporcionando melhor qualidade do ovo, aumentando sua capacidade de eclosão (BOBE; LABBÉ, 2010). O sucesso dessa tecnologia depende de boas práticas de manejo como, o monitoramento dos parâmetros da água de incubação e a eliminação dos agentes patogênicos. Algumas espécies de bactérias, fungos e componentes do zooplâncton quando presentes no meio de cultivo podem ocasionar grandes perdas na produção (ZANIBONI-FILHO, 2000).

Para combater os microrganismos nocivos nas incubadoras de ovos de peixes, normalmente, são utilizados produtos como, verde de malaquita, formalina, peróxido de hidrogênio, permanganato de potássio e iodo (FUANGSAWAT et al., 2011). Esses produtos químicos se usados em pisciculturas, devem ser fiscalizados (TAVECHIO et al., 2009) pelo risco de contaminar os ambientes aquáticos e ter efeitos acumulativo e carcinogênico (CELADA et al., 2006), além de apresentarem eficácia duvidosa e difícil tratamento, levando a busca por substitutos adequados (CARUANA et al., 2012).

Neste contexto, os extratos de plantas estão sendo muito estudados, por conterem propriedades capazes de prevenir e curar algumas enfermidades na piscicultura (TAVECHIO et al., 2009). Algumas plantas possuem princípios ativos com propriedades antimicrobianas, imunoestimulantes e nutricionais e estão sendo utilizadas na aquicultura (CITARASU, 2010). Produtos derivados de plantas parecem representar uma promissora fonte de moléculas bioativas, sendo ao mesmo tempo, prontamente disponíveis, econômicos e biocompatíveis (BULFON et al., 2015). Dentre estas plantas medicinais, o alho se destaca por possuir compostos sulfurados e bioflavonóides presentes na parte bulbônica, como, a alicina e o ajoeno principalmente (LEE; GAO, 2012). Esses compostos possuem ação antiviral, antifúngica e antibacteriana (SANTHOSHA et al., 2013).

O jundiá, *Rhamdia quelen*, (Quoy & Gaimard, 1824), é uma espécie nativa do Brasil, encontrado nas Américas Central e do Sul. As características desse peixe são favoráveis para ensaios de reprodução artificial, fato que o torna um modelo biológico muito bom para experimentação. Os atributos desta espécie são rusticidade, bom crescimento, resistência a baixas temperaturas e condições de manejo (BARCELLOS et al., 2012), maturidade sexual rápida, grande número de gametas com desova duas vezes no ano, e facilidade no manejo reprodutivo artificial (BALDISSEROTTO; NETO, 2013).

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da utilização do óleo essencial de alho (*Allium sativum*) sobre as taxas de fertilidade, eclosão dos ovos e normalidade das larvas de jundiá (*Rhamdia quelen*) incubadas artificialmente.

3.2 Material e Métodos

A pesquisa consistiu de dois experimentos ambos realizados no Laboratório de Tecnologia da Reprodução dos Animais Aquáticos Cultiváveis (LATRAAC) da Universidade Estadual do Oeste do Paraná (Unioeste), instalado no Instituto de Pesquisas em Aquicultura Ambiental (InPAA), Toledo, PR, no período de outubro a dezembro de 2014.

Para a manipulação reprodutiva foram selecionados aleatoriamente dos tanques do InPAA os reprodutores que liberaram sêmen quando submetidos à leve pressão abdominal, e as matrizes que apresentaram abdômen arredondado, papila urogenital avermelhada, coloração e tamanho dos ovócitos uniformes (Figura 3) (WOYNAROVICH E HORVÁTH, 1983; ANDRADE et al., 2015).



Figura 3. Seleção de reprodutores dos tanques do InPAA

Os reprodutores selecionados foram individualmente pesados, marcados e separados por sexo em dois tanques, dotados de aeração e renovação constante de água. No experimento I, foram utilizados 14 espécimes com fêmeas de peso médio de 262 ± 177 g e machos de 230 ± 72 g. No experimento II, foram utilizados 12 jundiás com fêmeas de peso médio de 424 ± 182 g e machos de 211 ± 98 g.

A manipulação hormonal foi realizada com a utilização de extrato pituitário de carpa (EHC), sendo o protocolo empregado para as fêmeas de 5,5 mg EHC kg de matriz⁻¹, distribuída em duas doses, 10% na primeira aplicação e o restante 12 horas após a dose inicial

preparatória (BOMBARDELLI et al., 2006). A coleta dos ovócitos de cada uma das fêmeas foi realizada por meio de massagem abdominal, após 240 horas-grau (10 h, água a 24 °C) contadas a partir da segunda aplicação hormonal.

Para os machos foi aplicada uma única dose de 3,0 mg EHC kg de reprodutor⁻¹ e após 240 horas graus retirado o sêmen por meio de massagem abdominal no sentido cefalocaudal (SANCHES et al., 2011). O sêmen foi coletado em tubos de ensaio e mantidos sob-refrigeração (12 °C) para análise dos parâmetros espermáticos e seminais. A coloração e viscosidade do sêmen foram observadas, subjetivamente, no momento da coleta. Para a estimativa da quantidade de ovócitos para cada incubadora, três amostras de aproximadamente 0,1 mL de ovócitos foram separadas para contagem e estimativa do volume para 2,0 mL de ovócitos de acordo com as recomendações adaptadas de Zanibon-Filho e Weingartner (2007).

Foram utilizados 2,0 mL de ovócitos para cada incubadora. Os ovócitos foram fertilizados com 50 µL de sêmen e ativados com 20 mL de água (BOMBARDELLI et al., 2006). Os ovos fertilizados foram enxaguados três vezes com água do próprio sistema (ZANIBONI-FILHO; WEINGARTNER, 2007) e transferidos para as incubadoras.

Foi desenvolvida uma estrutura de reprodução, para realização dos experimentos, com quatro sistemas individuais de recirculação de água e cinco incubadoras experimentais de 2,5 L para cada sistema (Figura 4).



Figura 4. Incubadoras artificiais de ovos de peixes em sistemas individuais de recirculação de água e incubadoras de 2,5 L

Os tratamentos foram representados por diferentes níveis (mg L^{-1}) de óleo essencial de alho, baseado no trabalho de Mousavi et al. (2009). O delineamento experimental inteiramente casualizado, consistiu de quatro tratamentos e cinco repetições sendo utilizado, no primeiro experimento (I) 0; 5; 10 e 20 mg L^{-1} e no segundo experimento (II) 0; 1; 3 e 5 mg L^{-1} de óleo essencial de alho. O óleo essencial de alho (LASZLO Aromatologia Ltda., Belo Horizonte, MG, Brasil) foi adicionado no sistema de reprodução uma hora antes da transferência dos ovos para as incubadoras.

Durante o período de incubação de ovos de jundiá foram mensurados o pH e o oxigênio dissolvido e a temperatura da água por meio de equipamento multiparâmetros, no período da manhã (8h) e no período da tarde (19h).

As taxas de fertilização foram calculadas após o fechamento do blastóporo, aproximadamente 10 horas pós-fertilização, sendo considerados ovos fertilizados aqueles que se apresentavam translúcidos e não fertilizados, os ovos opacos. Para isso, foram coletadas três amostras de cada incubadora, utilizando uma pipeta. As amostras foram colocadas em tubos de ensaios graduados com, aproximadamente, 1 mL de ovos. Determinou-se a relação entre o número de ovos fertilizados e o número total de ovos de cada amostra expressa em porcentagem. O término da eclosão dos ovos ocorreu, com aproximadamente, 24h de incubação. Os ovos foram coletados com auxílio de uma peneira e fixados em formol tamponado 4%.

As taxas de eclosão (%) foram determinadas pela relação entre o número de larvas eclodidas e o número de ovos estocados (GODINHO, 2007; MYLONAS et al., 2010). Foi mensurado ainda, o período de tempo em termos de unidades térmicas acumuladas (UTA) desde a fertilização até a eclosão das larvas. Posteriormente, do total de larvas fixadas foi estimado o percentual de larvas normais, com o auxílio de um microscópio estereoscópio (objetiva 4 x), considerando como padrão morfológico de larvas as descritas por Nakatani et al. (2001).

Os resultados das taxas (%) de fertilização, eclosão dos ovos e a normalidade de larvas de jundiá foram submetidos aos testes de normalidade e análise de variância (ANOVA). As médias foram comparadas pelo teste de Dunnett (5%). Aplicou-se a análise de regressão a 5% de probabilidade, utilizando o software estatístico SAEG (Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas).

3.3 Resultados e Discussão

Os valores dos parâmetros de qualidade de água, incluindo temperatura, oxigênio dissolvido e pH foram mensurados as 8 h e 19 h mantiveram-se dentro dos padrões recomendados para incubação artificial de ovos de jundiá em sistema de recirculação de água, respectivamente para o experimento I e II (Tabela 4).

Tabela 4. Valores médios de temperatura (TP), oxigênio dissolvido (OD) e pH da água no período da manhã (8 h) e a tarde (19 h), durante a incubação artificial dos ovos de jundiá submetidos a diferentes concentrações de óleo essencial de alho. Óleo de alho (mg L^{-1})

	TP ($^{\circ}\text{C}$)		OD (mg L^{-1})		pH	
	Manhã	Tarde	Manhã	Tarde	Manhã	Tarde
<i>Experimento I</i>						
0	23,5	25,1	6,8	7,5	7,7	7,5
5	23,7	24,6	7,9	7,7	7,6	7,4
10	23,7	24,9	7,9	7,1	7,6	7,5
20	23,9	24,6	8,1	7,6	7,6	7,4
<i>Experimento II</i>						
0	24,5	25,1	7,1	7,1	8,4	8,8
1	23,6	24,9	7,1	7,1	8,2	8,5
3	24,5	24,1	7,1	7,1	7,9	8,4
5	24,5	24,8	7,1	7,1	8,8	8,3

No experimento I, os valores médios de fertilização foram de $10,5 \pm 4$ e de $29,5 \pm 21$ para o nível 0 e 5 mg L^{-1} , respectivamente. As médias de eclosão foram $3,2 \pm 0,9$ e de $14 \pm 10,5$ para o nível 0 e 5 mg L^{-1} , respectivamente. A menor concentração (5 mg L^{-1}) resultou na melhoria da fertilização e eclosão ($p < 0,05$), variando de 14 a 60 e 6,9 a 29,4% respectivamente (Tabela 5). Os resultados obtidos corroboram com os trabalhos de Abdel-Hadi et al. (2008) e Mousavi et al. (2009), que obtiveram, respectivamente, melhores taxas de fertilização com a utilização de menores doses de extrato de alho ($0,5 \text{ g L}^{-1}$) em incubadoras de ovos de carpa prateada (*Hypophthalmichthys molitrix*) e maiores taxas de eclosão de ovos (70%) com a menor concentração de óleos essenciais (10 mg L^{-1}), em incubadoras de ovos de truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*).

Tabela 5. Taxas de fertilização e eclosão (média $\pm$ desvio padrão) de ovos de jundiá incubados artificialmente e submetidos a diferentes doses de óleo essencial de alho

Óleo essencial de alho (mg L ⁻¹)	Fertilização (%)	Eclosão (%)
0	10,45 $\pm$ 4,00 b	3,20 $\pm$ 0,94 b
5	29,50 $\pm$ 21,08 a	13,98 $\pm$ 10,53 a
10 ^a	-	-
20 ^a	-	-

Médias seguidas de letras minúsculas, distintas nas colunas, diferem entre si pelo teste de Dunnett a 5% de probabilidade; ^aDosagens de 10 e 20 mg L⁻¹ ocasionaram a degradação dos ovos, não ocorrendo a fertilização e eclosão (-)

As concentrações de 10 e 20 mg L⁻¹ de óleo essencial de alho, causaram a morte total dos ovos nas primeiras 10 horas após a introdução nas incubadoras. Observou-se que houve degradação dos ovos nestes tratamentos, isto demonstra que o óleo de alho nessas dosagens foi tóxico para os ovos de jundiá. Apesar da ampla margem de segurança da utilização dos extratos de plantas medicinais, há também relatos escassos sobre os seus impactos negativos em piscicultura (SYAHIDAH et al., 2015). Alguns produtos podem causar injúrias sobre as membranas dos ovos embrionados (BROOKS et al., 1997). Os óleos essenciais concentram muitos produtos metabolizados pela planta, e podem apresentar toxicidade (CORRÊA; SALGADO, 2011). No óleo essencial de alho os componentes que apresentam maior toxicidade são dissulfeto de dialila e trissulfeto de dialila (ZHAO et al., 2013).

No experimento II, os níveis de óleo essencial de alho tiveram efeito linear crescente ($p < 0,05$) sobre as taxas de fertilização e eclosão. O óleo de alho não influenciou ($p > 0,05$) na normalidade das larvas (Tabela 6).

Tabela 6. Taxas de fertilização, eclosão e larvas normais (média $\pm$ desvio padrão), de jundiá incubadas artificialmente, submetidas a diferentes doses de óleo essencial de alho

Óleo essencial de alho (mg L ⁻¹)	Fertilização (%) ^a	Eclosão (%) ^b	Larvas Normais (%)
0	57,22 $\pm$ 6,46	47,28 $\pm$ 5,19	49,70 $\pm$ 17,31
1	55,83 $\pm$ 9,15	48,06 $\pm$ 9,56	44,55 $\pm$ 4,69
3	62,98 $\pm$ 13,75	50,26 $\pm$ 5,25	54,18 $\pm$ 7,72
5	74,86 $\pm$ 6,53	66,21 $\pm$ 5,44	43,14 $\pm$ 6,85

^a $y = 54,3940 + 3,7006x$, $R^2 = 0,8965$, ($p < 0,01$); ^b $y = 44,8190 + 3,6147x$, $R^2 = 0,8060$, ($p < 0,05$)

Os resultados indicam que níveis crescentes de óleo essencial de alho, promoveram aumento nas taxas de fertilização e eclosão, sendo o melhor resultado obtido neste experimento o nível de 5 mg L⁻¹, com taxas de fertilização e eclosão variando de 65,8 a 83,7 e 57,6 a 71,4% respectivamente.

O efeito positivo do óleo essencial de alho (5 mg L⁻¹) pode ter ocorrido na melhora da microbiologia da água, pois, o alho é utilizado na aquicultura por conter vários princípios ativos que atuam como antimicrobianos. Os compostos sulfurados e bioflavonóides presentes no alho, como a alicina e o ajoeno, atuam contra parasitas, na prevenção e cura de doenças (LEE; GAO, 2012) e como antimicrobianos (SANTHOSHA et al., 2013).

Devido as suas potentes propriedades medicinais, o alho vem sendo indicado em pisciculturas de diversos países para diferentes espécies de peixes (EMBRAPA AMAZÔNIA OCIDENTAL, 2009). Essas propriedades são comprovadas por pesquisas que têm demonstrado a eficácia do alho como imunoestimulantes e na eliminação dos principais microrganismos de peixes de água doce (LEE; GAO, 2012), como exemplo, *Trichodina* sp. em alevinos de tilápias (CHITMANAT et al., 2005), *Aeromonas hydrophila* em alevinos de truta arco-íris (NYA et al., 2010) e melhora na taxa de sobrevivência em tilápia do Nilo (ALY; MOHAMED, 2010).

A busca por substâncias naturais nas pisciculturas é necessária, pois o mercado consumidor está sempre exigindo uma maior sustentabilidade destes, consequentemente, os piscicultores devem se adequar a essa tendência, buscando reduzir a utilização de produtos químicos e antimicrobianos que podem prejudicar o meio ambiente e comprometer a saúde das pessoas. Sugere-se que novas pesquisas sejam realizadas a fim de definir as dosagens e os possíveis efeitos tóxicos do óleo essencial de alho nos ovos e larvas de jundiá, para que haja uma maior eficiência dos processos reprodutivos, garantindo melhores taxas de fertilização e eclosão dos ovos e também, contribua para redução de danos ao ambiente e custos de produção.

O óleo essencial de alho (*Allium sativum*) pode ser uma alternativa a ser utilizada na aquicultura, como um fitoterápico em substituição aos produtos químicos, promotor da qualidade dos ambientes de reprodução artificial. Este produto pode ser factível, economicamente viável e ambientalmente correto para a piscicultura, contribuindo com a sustentabilidade.

3.4 Conclusões

O óleo essencial de alho promove melhores taxas de fertilização e eclosão de ovos de jundiá incubados artificialmente, não influenciando negativamente na normalidade das larvas. Níveis crescentes de óleo essencial de alho, promovem aumento nas taxas de fertilização e eclosão. Recomenda-se a concentração de 5 mg L⁻¹ de óleo essencial de alho para melhorar as taxas de fertilização e eclosão de ovos de jundiá incubados artificialmente, em sistema de recirculação de água.

3.5 Agradecimentos+

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes), pela concessão da bolsa e ao Grupo de Estudos em Tilapicultura (GET) pelo suporte durante as análises.

3.6 Referências

- ABDEL-HADI, Y.M.; SALEH, O.A.; AKAR, A.M. Study on the use of *Artemisia cina* L. (wormseed plants) and *Allium sativum* (garlic) in the control of Saprolegniosis in egg of *Cyprinus carpio* (common carp) and *Hypophthalmichthys molitrix* (silver carp). In: MALAYSIAN SYMPOSIUM ON MICROBIOLOGY (MSM), 30., 2008, **Anais...** Kuantan, Malaysia, 2008, p.571-573.
- ALY, M.; MOHAMED, M.F. *Echinacea purpurea* and *Allium sativum* as immunostimulants in fish culture using Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **The Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v.94, n.5, p.31-39, 2010.
- ANDRADE, E.S.; ANDRADE, E.A.; FELIZARDO, V.O.; PAULA, A.J.; VERAS, G.C.; MURGAS, L.D.S. Biologia reprodutiva de peixes de água doce. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.39, n.1, p.195-201, 2015.
- BALDISSEROTTO, B.; NETO, J.R. Jundiá (*Rhamdia* sp.). Reprodução e larvicultura In: BALDISSEROTTO, B.; GOMES, L.C. (Org.). **Espécies nativas para piscicultura no Brasil**. 2. ed. Santa Maria: Ed. UFSM, 2013. p.305-306.
- BARCELLOS, L.J.G.; QUEVEDO, R.M.; SILVA, L.B. Policultivo. As espécies propostas. In: BARCELLOS, L.J.G.; FAGUNDES, M. (Eds.). **Policultivo de jundiás, tilápias e carpas**. 2. ed. Passo Fundo: Ed. Universidade de Passo Fundo, 2012. p.97-98.
- BOBE, J.; LABBÉ, C. Egg and sperm quality in fish. **General and Comparative Endocrinology**, v.165, n.3, p.535-548, 2010.
- BOMBARDELLI, R.A.; MÖRSCHBÄCHER, E.F.; CAMPAGNOLO, R.; SANCHES, E.A.; SYPPERRECK, M.A. Dose inseminante para fertilização artificial de ovócitos de jundiá cinza, *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimardm, 1824). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.4, p.1251-1257, 2006.

- BROOKS, S.; TYLER, C.R.; SUMPTER, J.P. Egg quality in fish: what makes a good egg? **Reviews in Fish Biology and Fisheries**, v.7, n.4, p.387-416, 1997.
- BULFON, C.; VOLPATTI, D.; GALEOTTI, M. Current research on the use of plant-derived products in farmed fish. **Aquaculture Research**, v.46, n.3, p.513-551, 2015.
- CARUANA, S.; YOON, G.H.; FREEMAN, M.A.; MACKIE, J.A.; SHINN, A.P. The efficacy of selected plant extracts and bioflavonoids in controlling infections of *Saprolegnia australis* (Saprolegniales: Oomycetes). **Aquaculture**, v.358-359, p.146-154, 2012.
- CELADA, J.D.; MELENDRE, P.M.; CARRAL, J.M.; SÁEZ-ROYUELA, M.; AGUILERA, A. Effectiveness of antifungal treatments during artificial incubation of the signal crayfish eggs (*Pacifastacus leniusculus* Dana. Astacidae). **Aquaculture**, v.257, n.1-4, p.257-265, 2006.
- CITARASU, T. Herbal biomedicines: a new opportunity for aquaculture industry. **Aquaculture International**, v.18, n.3, p.403-414, 2010.
- CHITMANAT, C.; TONGDONMUAN, K.; NUNSONG, W. The use of crude extracts from traditional medicinal plants to eliminate *Trichodina* sp. in tilapia (*Oreochromis niloticus*) fingerlings. **Songklanakarin Journal of Science and Technology**, v.27, n.(Suppl.1), p.359-364, 2005.
- CORRÊA, J.C.R.; SALGADO, H.R.N. Atividades inseticidas das plantas e aplicações: revisão. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v.13, n.4, p.500-506, 2011.
- EMBRAPA AMAZÔNIA OCIDENTAL. **Plantas medicinais na prevenção e tratamento de doenças na piscicultura**. Click News 2009. Amazônia: Embrapa Amazônia Ocidental, 2009. (Biblioteca(s): Embrapa Amazônia Ocidental). Disponível em: <<http://www.bdpa.cnptia.embrapa.br/busca?b=pc&id=853254&biblioteca=vazio&busca=autoria:%22BOIJINK,%20C.%20de%20L.%22&qFacets=autoria:%22BOIJINK,%20C.%20de%20L.%22&sort=&paginacao=t&paginaAtual=1>>. Acesso em: 05 fev. 2015.
- FUANGSAWAT, W.; ABKING, N.; LAWHAVINIT, O.A. Sensitivity comparison of pathogenic aquatic fungal hyphae to sodium chloride, hydrogen peroxide, acetic acid and povidone iodine. **Kasetsart Journal of Natural Science**, v.45, n.1, p.84-89, 2011.
- GODINHO, H.P. Estratégias reprodutivas de peixes aplicadas à aquicultura: bases para o desenvolvimento de tecnologias de produção. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.31, n.3, p.351-360, 2007.
- LEE, J.Y.; GAO, Y. Review of the application of garlic, *Allium sativum*, in aquaculture. **Journal of the World Aquaculture Society**, v.43, n.4, p.447-458, 2012.
- MOUSAVI, S.M.; MIRZAGAR, S.S.; MOUSAVI, H.E.Z, BAIGI, R.O.; KHOSRAVI, A.; BAHONAR, A.; AHMADI, M.R. Evaluation of activity of new combined essential oils in comparison with malachite green on hatching rate in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) eggs. **Journal of Fisheries and Aquatic Science**, v.4, n.2, p.103-110, 2009.

- MYLONAS, C.C.; FOSTIER, A.; ZANUY, S. Broodstock management and hormonal manipulations of fish reproduction. **General and Comparative Endocrinology**, v.165, n.3, p.516–534, 2010.
- NAKATANI, K.; AGOSTINHO, A.A.; BAUMGARTNER, G.; BIALETZKI, A.; SANCHES, P.V.; MAKRAKIS, M.C.; PAVANELLI, C.S. **Ovos e larvas de peixes de água doce: desenvolvimento e manual de identificação**. Maringá: EDUEM, 2001. 378 p.
- NYA, E.J.; DAWOOD, Z.; AUSTIN, B. The garlic component, allicin, prevents disease caused by *Aeromonas hydrophila* in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). **Journal of Fish Diseases**, v.33, n.4, p.293-300, 2010.
- SANCHES, E.A.; BAGGIO, D.M.; PIANA, P.A.; SOUZA, B.E.; BOMBARDELLI, R.A. Artificial fertilization of oocytes and sperm activation in pacu: effects of the spermatozoa: oocyte ratio, water volume, and *in natura* semen preservation. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, n.1, p.1-6, 2011.
- SANTHOSHA, S.G.; PRAKASH JAMUNA, S.N.; PRABHAVATH, I. Bioactive components of garlic and their physiological role in health maintenance: A review. **Food Bioscience**, v.3, n.9, p.59-74, 2013.
- SYAHIDAH, A.; SAAD, C.R.; DAUD, H.M.; ABDELHADI, Y.M. Status and potential of herbal applications in aquaculture: a review. **Iranian Journal of Fisheries Sciences**, v.14, n.1, p.27-44, 2015.
- TAVECHIO, W.L.G.; GUIDELLI, G.; PORTZ, L. Alternativas para a prevenção e o controle de patógenos em piscicultura. **Boletim do Instituto de Pesca**, v.35, n.2, p.335-341, 2009.
- WOYNAROVICH, E.; HORVÁTH, L. **A propagação artificial de peixes de águas tropicais**, 6. ed. Brasília: FAO/CODEVASF/CNPQ, 1983. 225 p.
- ZANIBON-FILHO, E.; WEINGARTNER, M. Técnicas de indução da reprodução de peixes migratórios. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.31, n.3, p.367-373, 2007.
- ZAOH, N.N.; ZHANG, H.; ZHANG, X.C.; LUAN, X.B.; ZHOU, C.; LIU, Q.Z.; SHI, W.P.; LIU, Z.L. Evaluation of acute toxicity of essential oil of garlic (*Allium sativum*) and its selected major constituent compounds against overwintering *Cacopsylla chinensis* Hemiptera: Psyllidae). **Journal of Economic Entomology**, v.106, n.3, p.1349-1354, 2013.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A utilização de produtos químicos em pisciculturas é prejudicial, tanto para o meio ambiente, quanto para os animais, porém, eles são frequentemente utilizados nas produções aquícolas. Este estudo teve como objetivo avaliar um produto natural, óleo essencial de alho, nas incubadoras artificiais de ovos de jundiá.

O óleo essencial de alho foi escolhido por possuir propriedades antimicrobianas já que, um dos problemas que afetam o aumento da produção de alevinos são os microrganismos presentes no meio de cultivo na incubação artificial de ovos.

Os resultados encontrados neste estudo mostram que a inclusão do óleo essencial de alho melhorou as taxas de fertilização e eclosão de ovos de jundiá incubados artificialmente, entretanto, é necessária a realização de novos estudos a fim de avaliar a dose ideal e o efeito tóxico desse produto.

É necessária a substituição de produtos químicos por naturais em pisciculturas, desta forma, a difusão de pesquisas nesta área irá definir qual o melhor produto a ser utilizado. Os produtos naturais são factíveis, economicamente viáveis e ambientalmente corretos para a piscicultura, contribuindo com a sustentabilidade, por diminuir a utilização de produtos químicos.