

UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E AMBIENTAIS
CAMPUS IV – CHAPADINHA – MA
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

ROMÉRIO RODRIGUES DOS SANTOS SILVA

**ÓLEO ESSENCIAL DE *Lippia alba* COMO PROMOTOR DE CRESCIMENTO PARA
TAMBATINGA**

CHAPADINHA

2016

ROMÉRIO RODRIGUES DOS SANTOS SILVA

**ÓLEO ESSENCIAL DE *Lippia alba* COMO PROMOTOR DE CRESCIMENTO PARA
TAMBATINGA**

Monografia apresentada ao curso de Ciências
Biológicas da Universidade Federal do
Maranhão, para a obtenção do grau de
Bacharel/Licenciado em Ciências Biológicas.

Orientador (a): Profa. Dra. Jane Mello Lopes

CHAPADINHA – MA

2016

Ficha gerada por meio do SIGAA/Biblioteca com dados fornecidos pelo(a) autor(a).
Núcleo Integrado de Bibliotecas/UFMA

Rodrigues dos Santos Silva, Romério.

ÓLEO ESSENCIAL DE *Lippia alba* COMO PROMOTOR DE
CRESCIMENTO PARA TAMBATINGA / Romério Rodrigues dos Santos
Silva. - 2016.

56 f.

Orientador(a): Profa. Dra. Jane Mello Lopes.

Monografia (Graduação) - Curso de Ciências Biológicas,
Universidade Federal do Maranhão, Chapadinha - MA, 2016.

1. Aditivo alimentar. 2. *Colossoma macropomum* x
Piaractus brachypomum. 3. Erva-cidreira. 4. Nutrição. I.
Mello Lopes, Profa. Dra. Jane. II. Título.

A Deus pelo melhor caminho até aqui, a mim proporcionado.

A minha mãe e minha vó por toda dedicação, confiança,
incentivo e demonstração de amor.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

A Deus por tudo que tem me proporcionado, sempre estar comigo e me proteger, me deu forças, multiplicou minhas esperanças, e a cada dia me fez acreditar mais em mim.

A minha mãe Alzenir e a minha vó Nely, pela melhor criação que eu poderia ter, pela educação que me proporcionaram, por tantas vezes terem abdicado de seus sonhos para que eu e meus irmãos pudéssemos conquistar os nossos e por serem meus dois maiores exemplos de dignidade, humildade e de vida.

Aos meus irmãos Rayanne e Rayllan pelo amor, pelo apoio e pela torcida.

A Professora Dra Jane Mello Lopes, pelos ensinamentos, conselhos, pela paciência, pelo exemplo de profissional, pelas oportunidades e por tudo que contribuiu no meu início de vida científica.

Ao Professor Dr. Claudener Souza Teixeira por ter colaborado ativamente com esta pesquisa na orientação das análises e discussões bioquímicas, pela disponibilidade e pelo exemplo de profissional, assim como aos alunos do Laboratório de Biologia Estrutural e Molecular da Universidade Federal do Maranhão.

Ao professor Dr. Marcos Antonio Delmondes Bomfim e ao Laboratório de Nutrição de Organismos Aquáticos do Maranhão, pela formulação das dietas, por ter cedido o laboratório, alguns materiais e ingredientes para que fossem feitas as rações desse experimento.

Ao professor Dr. Alécio Matos pela amizade, pelos conselhos, pelas palavras que me ajudaram tanto nos momentos que eu precisei, por todas as conversas e por me fazer enxergar o mundo da ciência com outros olhos.

A todos os professores que fizeram parte do meu processo de aprendizagem e contribuíram na minha formação acadêmica.

Aos membros do grupo Pescado, em todas as formações, pelo companheirismo, pela amizade, pelos momentos e por tudo que compartilhamos nesses 2 anos e 6 meses.

A Gislane Silva, Maécio Macedo, Nataline Carneiro, pela ajuda na execução dos experimentos.

A Jessica Deyse e Raissa Costa pela colaboração nas análises bioquímicas desse experimento pelas manhãs, tardes, noites, enfim pelos dias exaustivos que passamos, mas que no final deu tudo certo. E a amizade que nos permitiu trabalhar com alegria e de forma agradável.

À Anália Santos e Rebeca Sousa a minha eterna gratidão pela bondade demonstrada nas horas em que mais precisei, pelos ensinamentos, pelo carinho, amizade, por todas as risadas e pela descontração nos momentos de intenso trabalho.

Aos amigos que foram essenciais nessa caminhada: Alynne Pereira pelo carinho, conselhos e pelo apoio e por toda motivação; Eliene Lima pela amizade, pelas palavras ditas a mim; Karla Batista pelas palavras, por me fazer rir quando eu só tinha vontade de chorar e por tantas vezes ter tirado inúmeras dúvidas minhas; Lêdia Feitosa pela amizade, pela atenção nos momentos em que precisei, as dúvidas referentes a bioquímica e aos protocolos e pelo carinho; Lucy Ana pela amizade, mesmo a distância e Lucas Bastos pela intensa amizade, o carinho, as palavras, por todos os momentos de alegria compartilhados, pela seriedade quando necessária, pelos conselhos enfim pelo amigo conquistado nessa fase.

A Ivanilda Pereira e Elinalva Moraes por terem sido o que foram para mim durante a graduação, por toda a ajuda nos momentos em que precisei, por cada palavra, por cada silêncio, por cada sorriso e manifestação de alegria, por me ensinarem a rir dos meus próprios problemas e acima de tudo por terem tornado esta minha caminhada um caminho com menos obstáculos.

Aos colegas/amigos da turma de Ciências Biológicas 2012.2, pelo companheirismo, pelas ajudas, pelas alegrias compartilhadas, em especial a Dodlânia Araújo, Márcio André e Taynara Lima.

A FAPEMA pela concessão da bolsa de iniciação científica.

A todos que contribuíram, mesmo que minimamente, para a realização desse trabalho e que de certa forma me ajudaram no decorrer desses quase quatro anos de UFMA... Faltam-me as palavras para agradecer, mas em mim transborda a alegria e a gratidão a Deus por ter me colocado na vida de pessoas maravilhosas e por ter colocado pessoas maravilhosas em minha vida. A todos vocês...

O meu muitíssimo OBRIGADO!!!

“Talvez não tenha conseguido fazer o melhor, mas lutei para que o melhor fosse feito. Não sou o que deveria ser, mas Graças a Deus, não sou o que era antes”.

(Marthin Luther King)

“[...] continue a nadar [...]”
Graham Walters; Procurando Nemo,
2003.

RESUMO

A *Lippia alba* conhecida por vários nomes populares é uma espécie encontrada em todas as regiões do Brasil e que possui uma ampla variedade de usos tradicionais e atividades farmacológicas. Dentre suas atividades destaca-se o uso como analgésico, antiinflamatório, sedativo, antimicrobiano e no tratamento de doenças cutâneas e respiratórias. Objetivou-se neste trabalho avaliar o efeito da adição do óleo essencial de *Lippia alba* na ração em relação ao crescimento e parâmetros metabólicos em tambatinga (*Colossoma macropomum* X *Piaractus brachypomum*). Foram utilizados 200 alevinos de tambatinga com peso inicial de $1,44 \pm 0,25$ g, distribuídos em 20 caixas de 150L, em um delineamento inteiramente casualizado com cinco tratamentos e quatro repetições. Foram elaboradas cinco dietas experimentais: 0 – Controle; 0,25 mL/kg de do OE de L. alba; 0,50 mL/kg; 1,0 mL/kg e 2,0 mL/kg, sendo os animais alimentados duas vezes ao dia até a saciedade aparente. Foi utilizado um circuito fechado de recirculação com biofiltro, onde diariamente eram aferidos a temperatura, pH e oxigênio dissolvido da água de cultivo e uma vez na semana era realizada a análise química da água (Amônia e Dureza). Diariamente as caixas foram sifonadas para retirada dos resíduos. Aos 30 e 60 dias foram realizadas as análises do desempenho (Ganho de Peso; Taxa de crescimento específico; Índice Hepatosomático e Fator de Condição) e ao final do período experimental (60 dias) os animais foram anestesiados, sacrificados e coletados amostra de fígado para a análise de glicose e proteína hepática e músculo para a análise de proteína muscular. As dietas contendo o OE de L. alba não influenciaram o crescimento, assim como também os parâmetros metabólicos analisados. Estes resultados indicam que o OE de *Lippia alba* não interfere no crescimento ou causa efeitos prejudiciais do ponto de vista metabólico para a tambatinga.

Palavras-chave: aditivo alimentar; erva-cidreira; nutrição; *Colossoma macropomum* x *Piaractus brachypomum*.

ABSTRACT

The *Lippia alba* known by several common names is a species found in all regions of Brazil and has a wide range of traditional uses and pharmacological activities. Among its activities stands out the use as an analgesic, anti-inflammatory, sedative, anti-microbial and treatment of skin and respiratory diseases. The aim of this study was to evaluate the effect of essential oil added *Lippia alba* in the feed in relation to the growth and metabolic parameters in tambatinga (*Colossoma macropomum* X *Piaractus brachypomum*). 200 fingerlings tambatinga with initial weight of 1.44 ± 0.25 g, distributed in 20 150L boxes, in a completely randomized design with five treatments and four replications. Five experimental diets were prepared: 0 - control; 0.25 ml / kg of the EO *L. alba*; 0.50 mL / kg; 1.0 ml / kg and 2.0 ml / kg, and the animals were fed twice daily to satiation. It used a recycle loop with biofilter, which were measured daily temperature, pH and dissolved oxygen of the culture of water and once a week was carried out chemical analysis of water (ammonia and hardness). Every day the boxes were siphoned to remove the waste. At 30 and 60 days were carried out performance analyzes (Gain weight, specific growth rate; hepatosomatic index and condition factor) and the end of the trial period (60 days) the animals were anesthetized, sacrificed and collected liver sample evaluate glucose and hepatic and muscle protein for the analysis of muscle protein. Diets containing *L. alba* EO did not affect growth, as well as metabolic parameters analyzed. These results indicate that the *Lippia alba* EO does not interfere with growth or cause damaging effects of metabolic point of view to tambatinga.

Keywords: food additive; lemongrass; nutrition; *Colossoma macropomum* x *Piaractus brachypomum*.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Exemplar de <i>Lippia alba</i> (Mill.) N.E. Brown.....	16
Figura 2: Exemplar de tambatinga	18

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1:** Composição da dieta controle utilizada no experimento com as tambatingas26
- Tabela 2:** Constituição química do óleo essencial de *Lippia alba* utilizado nas rações experimentais para tambatinga durante 60 dias..... 30
- Tabela 3:** Parâmetros de desempenho produtivo de alevinos de tambatinga alimentados com diferentes níveis de óleo essencial de *L. alba* na ração durante 60 dias.....31
- Tabela 4:** Parâmetros metabólicos de tambatinga alimentados com diferentes níveis de óleo essencial de *L. alba* na ração durante 60dias32

LISTA DE ABREVIATURAS, SÍMBOLOS E UNIDADES

CV – Coeficiente de Variação

E – Isômero E

FC – Fator de condição

OE – Óleo essencial

OEs – Óleos essenciais

g – grama

GP – Ganho de Peso

IHS – Índice Hepatosomático

kg – quilograma

TCE – Taxa de crescimento específico

L – Litro

µg – microgramas

mL – Mililitro

PF – Peso final

PI – Peso inicial

rpm – Rotações por minuto

SOB – Sobrevivência

ρ – rô

UI- Unidade Internacional

Z – Isômero Z

γ - Gama

SUMÁRIO

	pag.
I. REFERENCIAL TEÓRICO	14
i. Aditivos alimentares.....	14
ii. Óleos essenciais.....	15
iii. <i>Lippia alba</i>	16
iv. Tambatinga.....	17
1. INTRODUÇÃO	22
2. MATERIAL E MÉTODOS	25
2.1. Animais	25
2.2. Obtenção e análise química do óleo essencial de <i>Lippia alba</i>	25
2.3. Rações experimentais	25
2.4. Protocolo experimental.....	26
2.5. Determinação dos Parâmetros Metabólicos	27
2.5.1. Dosagem de glicose.....	27
2.5.2. Dosagem de proteína	28
2.6. Parâmetros de qualidade da água.....	28
2.7. Análise estatística e Delineamento experimental	29
2.8. Considerações éticas	29
3. RESULTADOS	29
3.1. Composição do OE.....	29
3.2. Parâmetros de qualidade da água.....	30
3.3. Desempenho produtivo	31
3.4. Parâmetros Metabólicos	31
4. DISCUSSÃO	32
5. CONCLUSÃO	35
6. AGRADECIMENTOS	36
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	36
ANEXO A	45

I. REFERENCIAL TEÓRICO

i. Aditivos alimentares

Aditivos são todas as substâncias ou microrganismos que são intencionalmente incorporados na alimentação animal, de modo que essa incorporação não seja prejudicial aos animais e ao homem, não deixem resíduos nos produtos de consumo, nem contaminem o meio ambiente sendo utilizadas de acordo com as normas estabelecidas. Os aditivos podem ou não, terem valor nutritivo, mas possuem características que podem afetar ou melhorar as características dos alimentos, dos produtos animais e até mesmo do desempenho produtivo desses animais (SOUZA E SILVA, 2008). Os aditivos alimentares envolvem várias classes de substâncias dentre elas: conservantes, adsorventes, aglutinantes, anticoccidianos, corantes, enzimas, nucleotídeos, pigmentares, probióticos, prebióticos, simbióticos, promotores de crescimento dentre outros.

A classe promotores de crescimento são considerados como os principais aditivos de uso na alimentação animal, nesta classe agrupam-se os compostos usados como micro ingredientes na ração e que tem a propriedade de promover o crescimento atuando por: modificar diretamente o processo metabólico do hospedeiro; reduzir a disponibilidade de nutrientes que são metabolizados durante a fase de crescimento de microrganismos prejudiciais ao metabolismo; aumentar a capacidade de absorção de nutrientes do trato digestório; funcionar como quelantes intracelulares de micro minerais essenciais para o metabolismo de microrganismos patogênicos; agir como antimicrobianos de largo espectro com pronunciada ação contra bactérias, fungos e alguns protozoários; modificação do ecossistema microbiano do trato gastrintestinais para aumento da produção e eficiência (BELLAYER, 2000).

Os promotores de crescimento, conhecidos como antibióticos ou antimicrobianos, são substâncias que têm a capacidade de inibir o crescimento de microrganismos sem comprometer a saúde do indivíduo medicado. São empregados como medicamentos de grande importância no tratamento e prevenção de doenças infecciosas, e ainda, como aditivos em rações, visando diminuir a mortalidade e melhorar o desempenho de animais de produção (ALMEIDA e PALERMO NETO, 2006). A aplicação desses antibióticos pode se dar por várias formas: podem ser administradas doses diretamente na água, ou na ração animal, assim como também diretamente no animal como é o caso das vacinas. Com a possibilidade do desenvolvimento de

resistência bacteriana aos antibióticos e resíduos desses micro ingredientes nas carnes destinadas ao consumo humano, a Comissão Europeia, decidiu proibir a inclusão dos antibióticos promotores de crescimento na ração dos animais (DEMINICIS e MARTINS, 2013).

Para espécies aquáticas o uso de aditivos ainda é recente. Em decorrência da constante pressão sobre a indústria para reduzir o uso de antibióticos e encontrar alternativas seguras e eficientes, tem se buscado o desenvolvimento de estratégias de suplementação como alternativa ao uso de antibióticos nas dietas de peixes. Nos últimos anos, houve um aumento significativo da utilização de imunostimulantes fitoterápicos, melhorando a saúde e sobrevivência dos animais aquáticos (LIMA, 2015).

ii. Óleos essenciais

Os óleos essenciais (OEs) são substâncias com características voláteis e que são extraídas de plantas aromáticas pelo método de extração a vapor, constituem matérias-primas de grande importância para as indústrias de cosméticos, farmácia e alimentícia. Podem ser encontrados difundidos nas partes aéreas das plantas, nas flores, folhas, no lenho, nas raízes e nas sementes. Os OEs possuem propriedade seletiva sobre a microbiota (LEE et al., 2003) e a capacidade de melhorar o desempenho animal em sistemas intensivos de produção (WILLIAMS e LOSA, 2001).

Os OEs são denominados como óleo devido a sua característica lipofílica, no entanto eles não possuem composição glicéridica como os verdadeiros óleos e gorduras (SIANI et al., 2000).

Os compostos biologicamente ativos das plantas são na maioria metabólitos secundários, lipofílicos, líquidos ou voláteis, que pertencem aos grupos químicos dos terpenóides (monoterpenos e sesquiterpenos, esteróides, etc.), fenóis (taninos), glicosídeos e alcalóides (álcoois, aldeídos cetonas, ésteres, éteres, lactonas, etc.). A composição pode variar devido a fatores biológicos (espécie de planta, local de plantio e condições de colheita), de produção (extração, destilação e estabilidade) e também pelas condições de armazenamento (luz, temperatura, tensão de oxigênio e tempo de estocagem) (HUYGHEBAERT et al., 2011).

De modo geral os óleos essenciais têm seu uso empregado, principalmente como aromas, fragrâncias, fixadores de fragrâncias, em composições farmacêuticas e orais e

comercializados na sua forma bruta ou beneficiada, fornecendo substâncias purificadas como o limoneno, citral, citronelal, eugenol, mentol e safrol (BIZZO et al., 2009).

Ao serem aplicados na ração animal possuem diversas funções, incluindo aumento do consumo de ração e da palatabilidade, estimulação da secreção de enzimas digestivas, aumento das motilidades gástrica e intestinal, estimulação endócrina, atividade antibacteriana, atividade antiviral, atividade anti-helmíntica, atividade coccidiostática, estimulação da resposta imune, atividade antiinflamatória e antioxidante e ação pigmentante (BASMACIOĞLU MALAYOĞLU et al., 2010).

iii. *Lippia alba*

Lippia alba (Figura 1) é um subarbusto com aproximadamente 1,5 metros de altura, sendo nativa de quase todas as regiões do Brasil. Cresce em solos arenosos, nas margens de rios, lagos e lagoas. Apresenta um crescimento rápido, estando presente em regiões de clima tropical, subtropical e temperado (CORRÊA, 1992). Pertence à família Verbenaceae, sendo que o gênero *Lippia* abrange aproximadamente 200 espécies que crescem espontaneamente na América Central e do Sul, e na África (REIS et al., 2010).



Figura 1: Exemplar de *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown.

Fonte: Accrux.com

Em relação a sua morfologia: possui ramos finos, esbranquiçados, longos e quebradiços e folhas inteiras, opostas, de bordos serrados, com uma fina pilosidade e ápice agudo. Suas flores são reunidas em inflorescências axilares capituliformes azul-roxeadas, de tamanho

variável e os frutos são drupas globosas de cor róseo-arroxeadas (SACCOL, 2013). É amplamente conhecida na América Latina, em razão de seus variados usos tradicionais, bem como de seu odor aromático ou propriedades medicinais (HENNEBELLE et al., 2008). No Brasil, esta espécie é popularmente conhecida pelos nomes de falsa-melissa, erva-cidreira, carmelitana, lípia, cidreira, salva-limão, alecrim-do-campo, salva-do-brasil, cidreira-brava e pronto-alívio, dentre tantos outros.

A *L. alba* possui uma ampla variedade de usos tradicionais e atividades farmacológicas. Estes efeitos são: analgésico, anti-inflamatório, antipirético, sedativo, usado no tratamento de doenças cutâneas, remédio para doenças gastrointestinais, tratamento de doenças hepáticas, antimicrobiano, antiviral, antiespasmódico, tratamento de doenças respiratórias, cistostático e anticonvulsivante, além de ser usado como tempero culinário (SACCOL, 2013).

Na aquicultura o OE de *L. alba* já foi testado como: anestésico tendo sua atividade comprovada por Cunha et al. (2010); em procedimentos de manejo e transporte no estudo de Becker et al. (2012); como antibacteriano Sutili et al. (2015); efeitos também foram observados na conservação do pescado Veeck et al. (2013) e já foram realizados testes com o OE na ração para peixes nos trabalhos de Saccol et al. (2013) e Souza et al. (2015).

iv. Tambatinga

A Tambatinga (*Colossoma macropomum x Piaractus brachypomum*) (Figura 2) é um híbrido resultante do cruzamento entre a fêmea de tambaqui e o macho de pirapitinga, assim como seus parentais tem corpo alto, comprimido lateralmente, apresentando coloração clara, com as pontas das nadadeiras caudal e anal avermelhadas. O seu aparelho dentário é composto por seis dentes na área dentígera inferior e dois dentes pronunciados, na área dentígera superior além de apresentarem diversas projeções localizadas lateralmente, o que lhe dar um aspecto mais agressivo (ARARIPE, 2009).



Figura 2: Espécime de Tambatinga

Foto: Rebeca Sousa

Com relação ao manejo do cultivo, a viabilidade econômica e as alternativas para comercialização, pode-se ressaltar que o tambatinga apresenta melhor conversão alimentar que o tambaqui e o pirapitinga (PAULA, 2009), e seu aproveitamento através da filetagem, apresenta excelente rendimento (ARARIPE, 2009).

O trabalho foi descrito conforme as especificações da revista Boletim do Instituto de Pesca, o qual será submetido para publicação. As normas constam no Anexo A desse material.

ÓLEO ESSENCIAL DE *Lippia alba* COMO PROMOTOR DE CRESCIMENTO PARA TAMBATINGA

Resumo: Objetivou-se neste trabalho avaliar o efeito da adição do óleo essencial de *Lippia alba* na ração em relação ao crescimento e parâmetros metabólicos em tambatinga (*Colossoma macropomum* X *Piaractus brachypomum*). Foram utilizados 200 alevinos de tambatinga com peso inicial de $1,44 \pm 0,25$ g, distribuídos em 20 caixas de 150L, em um delineamento inteiramente casualizado com cinco tratamentos e quatro repetições. Foram elaboradas cinco dietas experimentais: 0 - Controle; 0,25 mL/kg de do OE de *L. alba*; 0,50 mL/kg; 1,0 mL/kg e 2,0 mL/kg, sendo os animais alimentados duas vezes ao dia até a saciedade aparente. Foi utilizado um circuito fechado de recirculação com biofiltro, onde diariamente eram aferidos a temperatura, pH e oxigênio dissolvido da água de cultivo e uma vez na semana era realizada a análise química da água (Amônia e Dureza). Diariamente as caixas foram sifonadas para retirada dos resíduos. Aos 30 e 60 dias foram realizadas as análises do desempenho (Ganho de Peso; Taxa de crescimento específico; Índice Hepatosomático e Fator de Condição) e ao final do período experimental (60 dias) os animais foram anestesiados, sacrificados e coletados amostra de fígado para a análise de glicose e proteína hepática e músculo para a análise de proteína muscular. As dietas contendo o OE de *L. alba* não influenciaram o crescimento, assim como também os parâmetros metabólicos analisados. Estes resultados indicam que o OE de *Lippia alba* não interfere no crescimento ou causa efeitos prejudiciais do ponto de vista metabólico para a tambatinga.

Palavras-chave: aditivo alimentar; erva-cidreira; nutrição; *Colossoma macropomum* x *Piaractus brachypomum*.

Essential oil of *Lippia Alba* as a growth maker for tambatinga

Abstract: The objective of this work to evaluate the effect of essential oil added *Lippia alba* in the feed in relation to the growth and metabolic parameters in tambatinga (*Colossoma macropomum* X *Piaractus brachypomum*). 200 fingerlings tambatinga with initial weight of 1.44 ± 0.25 g, distributed in 20 150L boxes, in a completely randomized design with five treatments and four replications. Five experimental diets were prepared: 0 - control; 0.25 ml / kg of the EO *L. alba*; 0.50 mL / kg; 1.0 ml / kg and 2.0 ml / kg, and the animals were fed twice daily to satiation. It used a recycle loop with biofilter, which were measured daily temperature, pH and dissolved oxygen of the culture of water and once a week was carried out chemical analysis of water (ammonia and hardness). Every day the boxes were siphoned to remove the waste. At 30 and 60 days were carried out performance analyzes (Gain weight, specific growth rate; hepatosomatic index and condition factor) and the end of the trial period (60 days) the animals were anesthetized, sacrificed and collected liver sample evaluate glucose and hepatic and muscle protein for the analysis of muscle protein. Diets containing *L. alba* EO did not affect growth, as well as metabolic parameters analyzed. These results indicate that the *Lippia alba* EO does not interfere with growth or cause damaging effects of metabolic point of view to tambatinga.

Keywords: food additive; lemongrass; nutrition; *Colossoma macropomum* x *Piaractus brachypomum*.

1. INTRODUÇÃO

Tem se buscado a máxima eficiência alimentar e promovido o uso de aditivos ou promotores de crescimento na ração de animais, conforme o grau de intensificação na produção. Os aditivos são utilizados para controlar agentes prejudiciais ao processo digestivo e assim proporcionar a melhora dos índices zootécnicos (NUNES *et al.*, 2012). Neste sentido a utilização de alimentos funcionais vem se intensificando nos últimos anos, pelo fato de favorecerem não só a nutrição básica, mas também por promover o aumento da eficiência alimentar e taxa de crescimento, associado muitas vezes à melhoria na saúde destes animais (OLIVEIRA *et al.*, 2002; MORAES, *et al* 2012; FERREIRA, 2012).

O uso de diferentes aditivos vem sendo testado na dieta de animais terrestres e aquáticos (SANTOS *et al.*, 2009), entre estes os antibióticos, quimioterápicos e vacinas apresentam uso questionável do ponto de vista sanitário (ROSTAGNO *et al.*, 2003). Além do elevado custo, estes produtos podem produzir efeitos indesejáveis como a bioacumulação nos organismos vivos e a resistência bacteriana (YU -WEN, 2009; CITARASU, 2010; HARIKRISHNAN *et al.*, 2011).

O uso destes produtos em dietas de peixes apresenta diferentes ações no organismo animal, estando na dependência da concentração dos princípios ativos ou majoritários, quantidade usada na dieta, forma de utilização e forma de aplicação, (SANTOS *et al.*, 2009).

Os óleos essenciais são uma mistura complexa de metabólitos secundários voláteis, isoladas das plantas pelo método de extração a vapor (LUCHESE, 2009) e que possuem diversos compostos ativos como fenóis, polifenóis, alcaloides, quinonas e terpenoides, estabelecendo-se como uma alternativa eficaz em relação aos aditivos convencionais (EXTRATOS VEGETAIS, 2010; HARIKRISHNAN *et al.*, 2011). Entre as classes de promotores de crescimento, se destacam por serem produtos naturais com boa disponibilidade e apresentarem menos efeitos colaterais (FERREIRA, 2012).

Estudos têm mostrado que a adição de óleos essenciais ou extratos de diferentes plantas (*Origanum heracleoticum*, *Origanum vulgari*, *Cynodon dactylon*, *Aegle marmelos*, *Withania somnifera*, *Zingiber officinale*, *Jatropha curcas*, *Aloysia triphylla* ou *Citrus sinensis*) na ração de peixes, quando comparados a um controle sem adição de qualquer aditivo na ração, aumentou o seu crescimento (SHALABY *et al.*, 2006; IMMANUEL *et al.*, 2009; ZHENG *et al.*, 2009;

KUMAR *et al.*, 2010; AHMADIFAR *et al.*, 2011; NDONG e FALL, 2011; ZEPPENFELD *et al.*, 2015; ACAR *et al.*, 2015) podendo representar uma alternativa viável para minimizar as perdas e aumentar a produtividade em condições intensivas de criação.

A *Lippia alba* (Mill.) N.E.Brown, popularmente conhecida pelos nomes de falsa melissa, erva-cidreira, cidreira, salva-limão, cidreira-brava e lipia, dentre tantos outros (DI STASI *et al.*, 2002; BARBOSA *et al.*, 2006; BARROS *et al.*, 2009) é uma espécie encontrada em todas as regiões do Brasil, em outros países da América do Sul e Central (HENEBELLE *et al.*, 2008), territórios tropicais da África (STASHENKO; JARAMILLO; MARTINEZ, 2004), Austrália (DAY; McANDREW, 2003) e Índia (SHUKLA *et al.*, 2009). Dependendo da origem geográfica, esta espécie está sujeita a grandes variações morfológicas, anatômicas e fotoquímicas (CORRÊA, 1992; GOMES *et al.*, 1993) sendo classificada em diferentes quimiotipos, de acordo com a constituição do óleo essencial (PASCUAL, *et al.*, 2001; TELES *et al.*, 2012). No Rio Grande do Sul e em São Paulo, o componente majoritário encontrado foi o linalol (STASHENKO; JARAMILLO; MARTINEZ, 2004; HELDWEIN *et al.*, 2012), enquanto que no Nordeste do Brasil já foram estabelecidos três quimiotipos: limoneno e carvona, limoneno e citral (BARBOSA, *et al.*, 2006).

Diversos trabalhos tratam da caracterização química destes quimiotipos e já foi demonstrado que citral, mirceno e limoneno são os prováveis responsáveis pela maioria dos efeitos centrais dos quimiotipos do óleo essencial desta planta (VALE *et al.*, 2002). O óleo essencial de *L. alba* tem um rendimento estimado de 0,1- 1,0% (TERBLANCHÉ; KORNELIUS, 1996) e o método para a sua extração é de baixo custo, o que torna possível seu uso em dietas para a piscicultura.

A *Lippia alba* possui uma variedade de usos na medicina popular e ação farmacológicas, destacando-se o uso como: analgésico, antiinflamatório, sedativo, antimicrobiano e usado como tempero culinário (PASCUAL *et al.*, 2001). Além destes, segundo STASHENKO *et al.* (2004), o óleo essencial de *L. alba* possui alta atividade antioxidante *in vitro*, e sob as mesmas condições, exibiu efeitos antioxidantes similares aos da vitamina E.

A espécie escolhida para este estudo foi a tambatinga, um híbrido a partir do cruzamento da fêmea do tambaqui (*Colossoma macropomum*) com o macho da pirapitinga (*Piaractus brachypomum*). Dentre as espécies nativas, a tambatinga vem ganhando cada vez mais o mercado e a preferência de indústrias de pescado, devido ao seu melhor rendimento

de carcaça, quando comparado ao tambaqui, e por possuir um desempenho produtivo superior ao desempenho da pirapitinga, além de se tornar uma alternativa para a piscicultura, pois esta espécie apresenta uma boa resistência a manejo e a adaptabilidade ao cultivo (ALENCAR ARARIPE *et al.*, 2011a; PINHEIRO *et al.*, 2015). Segundo OBA-YOSHIOKA *et al.* (2015) a tambatinga apresenta melhor conversão alimentar em comparação com seus descendentes. Poucos estudos têm relatado os aspectos metabólicos desta espécie e principalmente relacionados com a nutrição. Os poucos existentes são estudos com aminoácidos na ração, proteína bruta e alimentos alternativos (ALENCAR ARARIPE *et al.*, 2011a; ALENCAR ARARIPE *et al.*, 2011b; OBA-YOSHIOKA *et al.*, 2015).

Desta forma o presente trabalho teve por objetivos avaliar o efeito da adição do óleo essencial de *Lippia alba* na ração em relação ao desempenho produtivo e parâmetros metabólicos em tambatinga.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Animais

Foram utilizados 200 alevinos de tambatinga com peso inicial de $1,44 \pm 0,25$ g obtidos de fornecedores da região de Chapadinha - MA. No laboratório de Piscicultura do CCAA/UFMA os animais foram mantidos durante 15 dias para aclimação em tanques de criação (500 L) com aeração constante e alimentação a vontade duas vezes ao dia.

2.2. Obtenção e análise química do óleo essencial de *Lippia alba*

O óleo essencial (OE) de *L. alba* foi obtido a partir de folhas frescas usando o método de hidrodestilação (MING *et al.*, 1996) em aparelho do tipo Clevenger. A coleta do destilado foi realizada em um tubo graduado, sendo a fase aquosa levada para extração, em um processo que dura aproximadamente 2 horas.

A análise da composição química e a determinação quantitativa (%) do OE foram realizadas por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas. Tanto a extração quanto a análise química do OE de *L. alba* foram realizadas na Universidade Federal do Oeste do Pará - UFOPA (PA).

2.3. Rações experimentais

Foram formuladas cinco dietas experimentais a partir de uma dieta controle (Tabela 1) no Laboratório de Nutrição de Organismos Aquáticos do Maranhão (LANUMA/CCAA), conforme metodologia descrita por LAZZARI *et al.*, (2007). Todos os ingredientes pré - secos foram finamente moídos, peneirados e pesados. Após esse processo foram misturados até a completa homogeneização em misturador artesanal. Na sequência a ração controle foi suplementada com diferentes níveis do OE de *L. alba* (0; 0,25; 0,5; 1,0 e 2,0 mL/kg) em substituição ao óleo de canola. Os óleos foram adicionados aos ingredientes secos e após foram acrescidas água morna até que a massa chegasse num ponto de liga, ao chegar esse ponto a massa foi peletizada em moedor de carne e os pellets foram postos para secar ao sol durante 6 horas. Depois de pronta a ração foi estocada em freezer até o início do experimento.

Tabela 1: Composição da dieta controle utilizada no experimento com as tambatingas

Ingredientes	%
Farelo de soja	56,790
Milho	25,144
Farinha de carne e ossos	10,000
Óleo de canola	5,214
Lisina-HCl	0,241
DL-Metionina	0,230
L-Treonina	0,295
Fosfato Bicálcico	0,507
Premix Vitamínico e Mineral ¹	1,000
Vitamina C	0,050
Sal (NaCl)	0,508
Antioxidante (BHT)	0,020
Composição Nutricional	
Proteína Bruta (%)	32,00
Energia Digestível (kcal/kg)	3000,0
Fibra Bruta (%)	3,44
Ca Total (%)	1,39
Fósforo disponível (%)	0,70
Lisina (%) Digestível	1,74
Metionina + cistina Digestível (%)	1,05
Treonina Digestível (%)	1,34

¹Composição da mistura vitamínica e mineral (por kg de produto): ácido fólico : 250 mg, ácido pantotênico : 5000 mg , antioxidante : 0,60 g , biotina : 125 mg , cobalto : 25 mg , cobre : 2000 mg , ferro : 820 mg , iodo : 100 mg , manganês : 3750 mg , niacina : 5000 mg , selênio : 75 mg, vitamina A: 1 000 000 UI, vitamina B1: 1250 mg , vitamina B12 : 3750 mcg , vitamina B2 : 2500 mg , vitamina B6 : 2485 mg, vitamina C: 28 000 mg , a vitamina D3: 500 000 UI, vitamina E: 20 000 UI, vitamina K : 500 mg , zinco : 17 500 mg.

2.4. Protocolo experimental

Foram utilizados 20 caixas de 150 L dispostos em sistema fechado de recirculação constituído das estruturas de tratamento de água para reuso, formado por uma caixa de decantação (250 L) e um biofiltro (250 L). A caixa de decantação foi utilizada com a função de receber resíduos sólidos grosseiros como restos de ração e/ou fezes e o biofiltro para abrigar microrganismos nitrificantes para a conversão da amônia em nitrito e nitrito em nitrato.

Os peixes foram distribuídos nas caixas de criação com 10 peixes/caixa (4 repetições) e mantidos por um período de 60 dias. Os animais foram alimentados duas vezes ao dia

(09:00hs e 17:00hs) até a saciedade aparente, com as rações experimentais compostas pelos diferentes níveis de OE de *L. alba* (0; 0,25; 0,5; 1,0 e 2,0 mL/kg de OE).

Durante o período experimental foram realizadas três biometrias (0 - 30- 60 dias). Antes de cada procedimento os animais foram anestesiados com eugenol 40 mg/L por 2 min, conforme CUNHA *et al.*, (2010a) e após recolocados nas respectivas caixas. Foi utilizada uma balança de precisão (0,001g) para o peso e um paquímetro digital para medir o comprimento total.

Diariamente, 30 minutos após a alimentação, foi realizada a limpeza das caixas para a retirada de resíduos (restos de ração e fezes). Após a água foi repostada nas mesmas condições e proporções das que se encontravam nas caixas.

O desempenho produtivo foi calculado pela Taxa de Crescimento Específico (TCE): conforme a fórmula: $\{[\ln(\text{Peso final}) - \ln(\text{Peso inicial})] / \text{tempo em dias}\} \times 100$; o Fator de condição (FC): $(\text{Peso}) / (\text{Comprimento total})^3 \times 100$; o Índice Hepatosomático: $(\text{Peso do Fígado}) / (\text{Peso}) \times 100$; o Ganho de Peso: $(\text{Peso final} - \text{Peso inicial})$ e Taxa de sobrevivência, conforme a fórmula: $(\text{TS}\% = (\text{n}^\circ \text{ final de peixes} \times 100 / \text{n}^\circ \text{ inicial de peixes}))$.

Ao final do período experimental os peixes foram insensibilizados em água gelada (gelo), sacrificados por secção da medula espinhal e músculo e fígado foram coletados (n=8) para a análise dos parâmetros metabólicos (proteína e glicose).

2.5. Determinação dos Parâmetros Metabólicos

2.5.1. Dosagem de glicose

Para a obtenção dos extratos foram pesados 25 mg de fígado, que foram homogeneizados em 1 mL de TCA a 10%, até que o tecido estivesse dissolvido. Em seguida essa solução foi centrifugada a 12.000 rpm por 5 min. Os sobrenadantes obtidos foram estocados para a determinação da concentração de glicose nos tecidos, os quais, foram determinados por kit comercial da BioTécnica® que se baseia no método de DUBOIS *et al.*, (1956).

A determinação da glicose foi realizada por método colorimétrico, utilizando o kit comercial para análise de glicose da BioTécnica®. Para a determinação das concentrações de glicose, foram utilizados 10 µL do extrato, em seguida adicionado 1 mL do reagente comercial (R1) que contém, (Tampão fosfato 182,42 mmol/L pH 7,0; GOD - Glicose Oxidase > 15000 U/L; POD - Peroxidase > 1200 U/L; 4- aminoantipirina 0,3 mmol/L; fenol 10 mmol/L). Como solução padrão foi utilizado 10 µL do reagente STD (Azida sódica 0,02% e solução de glicose equivalente a uma concentração de 100 mg/dL) e 1,0 mL do R1, seguido da leitura das absorbâncias das amostras em espectrofotômetro no comprimento de onda de 505 nm. Para calcular a concentração de glicose no tecido foi utilizada a equação:

$$\text{Glicose (mg/dL)} = (\text{abs. da amostra/abs. do padrão}) \times \text{concentração padrão (mg/dL)}$$

2.5.2. Dosagem de proteína

Para a obtenção do extrato de proteína foram utilizados dois tecidos: 25 mg de fígados e 100 mg de músculo. Os tecidos foram homogeneizados em 1 mL de hidróxido de potássio (KOH 6 N), os extratos obtidos foram incubados em banho maria, até que o tecido desmanchasse. Dessas soluções foram retirados 100 µL e acrescidos mais 400 µL de água destilada a solução, e então as amostras foram centrifugadas a 3.000 rpm por 3 min.

A concentração das proteínas foi determinada pelo método de BRADFORD (1976). A concentração de proteína foi avaliada utilizando Albumina Sérica Bovina (BSA) como padrão. Foi coletado 100 µL das amostras dos tecidos acrescido de 2,5 mL da solução de Bradford. A leitura da absorbância foi realizada 30 minutos após o início da reação a 595 nm em espectrofotômetro. O cálculo da concentração de proteína foi realizado com base na equação da reta obtida a partir das leituras de absorbância das diferentes diluições de concentração da BSA a 595 nm.

2.6. Parâmetros de qualidade da água

Durante o experimento as características de qualidade da água foram verificadas diariamente (temperatura, pH e oxigênio dissolvido), utilizando termômetro, pHmetro e

oxímetro, respectivamente. Semanalmente, foram verificadas a amônia total e a dureza, sendo os mesmos determinados por kit colorimétrico.

2.7. Análise estatística e Delineamento experimental

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado utilizando análise de variância e o teste Dunnet para avaliar diferenças ($P < 0,05$) entre os tratamentos com níveis do óleo essencial em relação ao controle, por meio do programa estatístico SAS®.

2.8. Considerações éticas

Este projeto foi enviado para avaliação pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal do Maranhão sob processo (23115.004974/201646).

3. RESULTADOS

3.1. Composição do OE

Os componentes principais do OE de *L. alba* usado nas rações para pirapitinga foram: Geranial (30,02%), Neral (25,26%), Limoneno (9,11%), Elemol (5,24%), γ -Muuroleone (4,33%) e Bergamal (3,13%). Dentre os componentes encontrados, os isômeros Geranial e Neral juntos constituem o componente majoritário Citral, um monoterpene. A composição completa segue descrita abaixo (**Tabela 2**).

Tabela 2: Constituição química do óleo essencial de *Lippia alba* utilizado nas rações experimentais para tambatinga durante 60 dias.

Componente	%	TR(min.)	IRCalc	IRLit
6-metil-hept-5-en-2-ona	1,4	7,300	984	981
ρ -Cimeno	1,35	8,605	1024	1020
Limoneno	9,11	8,785	1029	1024
Bergamal	3,13	9,835	1058	1051
Z-Isocitral	1,1	14,005	1163	1160
E-Isocitral	1,51	14,775	1182	1177
Citronelol	1,42	16,760	1229	1223
Neral	25,26	17,410	1244	1235
Geranial	30,02	18,720	1274	1264
γ -Muuruleno	4,33	27,405	1482	1478
γ -Amorphene	1,14	27,945	1496	1495
Elemol	5,24	30,090	1551	1548
Compostos com percentual <1	13,3	-	-	-
Total de compostos identificados	98,31			

TR - Tempo de Retenção (min.). IRCALC - Índice de Retenção Calculado (Índice de Kovats). IRLIT - Índice de Retenção na Literatura.

3.2. Parâmetros de qualidade da água

Dos parâmetros de qualidade da água monitorados a temperatura (25,2 e 26°C) foi o único que se manteve abaixo do recomendado para o cultivo da Tambatinga. Durante o dia foram observadas pequenas variações de temperatura, ocorrendo apenas um pequeno aumento no período da tarde em relação ao período da manhã. Os valores de temperatura considerada adequada para um bom desempenho de espécies tropicais como o tambaqui, a pirapitinga e o híbrido tambatinga, que é na faixa de 28 a 32°C (PAULA, 2009).

O teor de oxigênio dissolvido apresentou pequenas variações durante o período experimental, mas manteve-se dentro da faixa considerada ótima ($6,15 \pm 0,83$) para peixes de águas tropicais. Este comportamento também foi observado em relação ao pH ($6,64 \pm 0,28$), a amônia total ($0,25 \pm 0,03$) e a dureza da água ($50 \pm 0,5$) que também se mantiveram nos níveis recomendados para a maioria das espécies de clima quente (MORO *et al.*, 2013).

3.3. Desempenho produtivo

A adição do OE de *L. alba* não apresentou efeito sobre o desempenho dos peixes. Estatisticamente não houveram diferenças significativas entre os grupos tratados com OE e o grupo controle (Tabela 3).

Tabela 3: Parâmetros de desempenho produtivo de alevinos de tambatinga alimentados com diferentes níveis de óleo essencial de *L. alba* durante 60 dias.

VARIÁVEL	NÍVEL DE OE					CV(%)
	0,00	0,25	0,50	1,00	2,00	
PI (g)	1,45	1,44	1,42	1,44	1,42	15,15
PF (g)	12,44	12,17	11,20	11,56	11,54	9,24
GP (g)	11,00	10,73	9,78	10,12	10,12	13,91
TCE (%)	3,58	3,56	3,45	3,48	3,50	5,31
IHS	1,20	1,07	1,01	1,07	1,03	32,93
FC	1,61	1,65	1,65	1,68	1,54	5,20
TS (%)	80	80	90	80	100	-

PI- Peso inicial, PF- Peso final, GP- ganho de peso, TCE-Taxa de crescimento específico, IHS- índice hepatossomático, FC- Fator de condição, TS - Taxa de sobrevivência (n = 10).

3.4. Parâmetros Metabólicos

Foram analisadas as concentrações de glicose e proteína do músculo e fígado da tambatinga submetidos a diferentes concentrações do OE de *Lippia alba* na ração. A adição do óleo na ração não alterou significativamente os valores da concentração da proteína hepática e muscular e glicose hepática (Tabela 4). Esses dados indicam que a adição do óleo na ração não altera o metabolismo energético via oxidação da glicose e de proteínas da espécie, sugerindo que a adição do óleo na ração dessa espécie não causa nenhum prejuízo do ponto de vista metabólico para a tambatinga.

Tabela 4: Parâmetros metabólicos de tambatinga alimentados com diferentes níveis de óleo essencial de *L. alba* durante 60 dias.

Parâmetro	Níveis de OE <i>L. alba</i> mL/kg					CV
	0,00	0,25	0,50	1,00	2,00	
Fígado						
Glicose	31,57	34,99	34,90	31,79	34,39	14,72
Proteína	0,57	0,61	0,51	0,54	0,58	9,24
Músculo						
Proteína	1,02	1,04	1,04	1,05	1,04	3,60

Proteína (mg/ mL) e Glicose (mg/ dL). (n=8).

4. DISCUSSÃO

A baixa temperatura da água observada durante o experimento (sistema fechado com recirculação) foi devido as caixas de cultivo ficarem num meio abrigado e a maior parte do tempo sombreado. A temperatura da água um pouco mais baixa do que a recomendada para a espécie pode ter influenciado o crescimento dos animais neste experimento. No estudo de PAULA (2009) o desempenho das tambatingas foi menor em temperaturas abaixo da faixa ótima para a espécie. Segundo os autores a temperatura da água induziu um menor desempenho produtivo desta espécie, situação que condiz com os dados observados nesse estudo.

Em estudos com Jundiá (*Rhamdia quelen*) submetidos a dietas com o mesmo óleo essencial (SACCOL, *et al.*, 2013 e SOUZA *et al.*, 2015), porém com componente majoritário diferente (Linalol) os autores obtiveram resultados semelhantes aos encontrados neste estudo, em relação ao crescimento. Igualmente não foram observadas diferenças significativas entre os grupos tratados e o grupo controle nas mesmas concentrações de OE de *Lippia*.

Não houve desafio sanitário, ou seja, os animais foram mantidos nas mesmas condições durante todo o experimento (sistema recirculação), o que pode explicar a ausência de diferença significativa nos tratamentos, com relação ao uso de diferentes concentrações de *Lippia*. Relatos de FABREGAT (2006) e SANTOS *et al.*, (2015) indicam um maior crescimento animal a partir do uso de probióticos quando este é exposto a um desafio sanitário. Recentemente, SUTILI *et al.*, (2015) investigaram a atividade antimicrobiana do OE de *L. alba* nas concentrações de 20 ou 50 µL/L contra *Aeromonas* sp. através de teste in vivo em Jundiá. As

diferentes concentrações de OE contribuíram para uma maior sobrevivência dos peixes infectados.

Neste sentido, em tilápia (*Oreochromis mossambicus*), dietas com óleo essencial de *Citrus sinensis* (laranja doce) aumentou o crescimento, a resposta imune e diminuiu a mortalidade quando os animais estiveram expostos a *Streptococcus iniae* (ACAR *et al.*, 2015).

O menor crescimento dos peixes observado neste estudo também pode estar associado a frequência de alimentação, pois os peixes foram alimentados duas vezes ao dia. Segundo ALEXANDRE (2010) o efeito da frequência alimentar pode variar com a espécie e o estágio de desenvolvimento dos mesmos, sendo que alevinos apresentam maior atividade metabólica e necessitam de maior frequência no fornecimento do alimento em relação aos animais adultos.

Outro fator que pode ser considerado é a forma de absorção de nutrientes e substâncias que contenham atividade biológica, ocasionando um efeito limitante para a adição de aditivos na alimentação animal (JUVEN, *et al.*, 1994). Um fator desconhecido é o local de absorção intestinal dos OEs em monogástricos, uma vez que o local de absorção intestinal desses OEs pode influenciar no aproveitamento pelo animal (FRECCIA, 2011). Uma vez que as interações existentes entre a microflora intestinal, a morfologia da mucosa gastrointestinal, o sistema imunológico e a absorção de nutrientes têm influência direta no desempenho produtivo de peixes e o pouco que se conhece sobre esses temas restringem-se a aves e suínos (SANTOS, *et al.*, 2009; SILVA, *et al.*, 2010).

Em suínos, os OEs são absorvidos na porção proximal do intestino, conseqüentemente, a atividade antimicrobiana é limitada na porção distal do intestino (MUHL; LIEBERT, 2007). Fatores como a forma de absorção e o local onde é absorvido, podem influenciar no aproveitamento dos princípios ativos dos OEs (FRECCIA, 2011). Como o uso de tais produtos é uma prática relativamente emergente, ainda há pouco conhecimento sobre os efeitos a longo prazo, sobre a fisiologia dos animais, bem como a falta de homogeneização para a preparação e administração destes produtos (REVERTER, *et al.*, 2014).

Mesmo sem favorecer o crescimento da tambatinga, o OE de *Lippia* igualmente não apresentou efeito contrário, ou seja, não afetou as características de produtividade dessa espécie. Caso contrário foi observado em Tilápias do Nilo (EL-SAYED, *et al.*, 2014) onde a inclusão do extrato de duas plantas (*Echinacea purpúrea* e *Panax ginseng*) nas dietas geraram efeito negativo na produtividade, tendo apresentado um menor consumo de ração e conversão

alimentar. SANTOS (2013) também observou redução no ganho de peso de tilápias do Nilo submetidas à alimentação com rações contendo extrato bruto de própolis.

Foi possível observar também que os níveis testados de OE, neste experimento, não apresentaram nenhuma toxidez aparente aos peixes, uma vez que as mortalidades relatadas foram em decorrência de outros fatores inerentes a poucos indivíduos. Sendo importante salientar que no tratamento que recebeu maior quantidade de *Lippia* a sobrevivência foi de 100%.

O fator de condição (FC) de uma espécie indica o estado fisiológico do animal a partir do pressuposto de que indivíduos com maior massa em um dado comprimento estão em melhor condição (FELIZARDO *et al.*, 2011). Tambatingas alimentadas com OE de *L. alba* na ração apresentaram maior FC do que o observado por SACCOL *et al.*, (2013) utilizando o mesmo OE de *Lippia*, e também superior ao relatado por MEURER *et al.*, (2006) e TACHIBANA *et al.*, (2011) ao testarem *Saccharomyces cerevisiae* e um probiótico comercial, respectivamente na alimentação para tilápias do Nilo. Entretanto SANTOS *et al.*, (2013), observaram que alevinos de tilápia alimentados com extrato de própolis vermelha obtiveram um fator de condição superior ao relatado nesta pesquisa, tendo um fator de condição mínimo de 1,96 e máximo de 2,25.

Não houve diferença estatística do Índice Hepatosomático (IHS) entre os tratamentos em relação a adição do óleo essencial. Os dados observados neste experimento mostraram-se dentro da faixa encontrada por SACCOL *et al.*, (2013) utilizando as mesmas concentrações de OE *Lippia*, em jundiá.

Os níveis de glicose e proteína hepática e proteína muscular têm sido reportados por outros trabalhos que remetem a adição de OEs na ração animal, como forma de avaliar os níveis de estresses metabólicos causados por adição de substâncias na ração de diferentes espécies de peixes (SOUZA *et al.*, 2015; SACCOL *et al.*, 2013).

No presente estudo, a adição do óleo essencial de *Lippia alba* rico em citral não alterou os valores de glicose e proteína no fígado e proteína no músculo da tambatinga, indicando que a adição do óleo não altera o metabolismo da glicose e de proteína nesta espécie. Esses resultados corroboram com SOUZA *et al.*, (2015), onde foi observado também a não alteração das concentrações de proteínas e glicose do músculo e fígado em *Rhamdia quelen*, quando submetido ao mesmo OE e concentrações, durante 20 dias. Entretanto, SACCOL *et al.* (2013)

observaram alterações nas concentrações de glicose no fígado de *R. quelen* quando submetidos aos mesmos níveis (0; 0,25; 0,5; 1,0 e 2,0 mL/kg) por 60 dias. Embora ambos os trabalhos tenham utilizado o OE de *Lippia*, ambos descreveram o monoterpene linalol como metabólito majoritário. Logo, o que poderia explicar essas diferenças de resultados seria o tempo de ação do princípio ativo do óleo na tambatinga e a concentração do tipo de isômero do metabólito majoritário nos óleos usados nos diferentes experimentos.

O OE utilizado no presente estudo diferente do reportado por SOUZA *et al.* (2015) e SACCOL *et al.* (2013) apresentou uma alta concentração de citral, especificamente os seus isômeros cis-neral (25,26%) e trans-geranial (30,02%) como demonstrado na Tabela 2. Já o Linalol apresentou menos de 1% na composição do OE de *Lippia alba*. Essas diferenças nas concentrações dos componentes majoritários podem ter uma relação direta na resposta dos parâmetros bioquímicos analisados. O OE de *L. alba* apresenta propriedade sedativo (CUNHA *et al.*, 2010b), o que poderia explicar a não alteração nos parâmetros bioquímicos devido ao baixo estresse metabólico ocasionado devido ao seu efeito sedativo do linalol. Da mesma forma do linalol, o citral é conhecidamente um monoterpene com propriedades sedativo (SOUSA *et al.*, 2015; DO VALE *et al.*, 2002). Logo, o que poderia explicar o fato de não haver alterações significativas do metabolismo da glicose e de proteínas nas tambatinga seria também devido a um possível efeito sedativo ocasionado pelo citral. Essas alterações no metabolismo energético poderiam ser evidenciadas caso a espécie tivesse sido submetida a algum estresse durante manejo ou transporte, como demonstrado por BECKER *et al.*, (2012).

Diante do discutido recomenda-se, que novos estudos com tambatinga sejam realizados para testar a eficiência e ação promotora de crescimento do OE de *L.alba* frente a um desafio sanitário.

5. CONCLUSÃO

O óleo essencial de *Lippia alba* não apresentou efetividade como promotor de crescimento em rações e nem interferiu no metabolismo de alevinos de tambatinga.

6. AGRADECIMENTOS

A Profa. Dra. Rosa Helena Veras Mourão por ter cedido o óleo essencial de *Lippia alba*, usado neste estudo. Ao Prof. Dr. Jefferson Costa de Siqueira, aos zootecnistas Thales José Rego de Sousa e Thiago Vinícius Ramos de Sousa pelas contribuições prestadas nas análises estatísticas.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACAR, Ü. KESBIÇ, O. S.; YILMAZ, S.; GÜLTEPE, N.; TÜRKER, A. Evaluation of the effects of essential oil extracted from sweet orange peel (*Citrus sinensis*) on growth rate of tilapia (*Oreochromis mossambicus*) and possible disease resistance against *Streptococcus iniae*. **Aquaculture** 437. 282–286, 2015.

AHMADIFAR, E.; FALAHATKAR, B.; AKRAMI, R. Effect of dietary thymol-cravacrol on growth performance hematological parameters and tissue composition of juvenile rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. **Journal Applied Ichthyology**. 1(4). P.1- 4. 2011.

ALENCAR ARARIPE, M. N. B.; ARARIPE, H. G. A.; LOPES, J. B.; BRAGA, T. E. A.; ANDRADE, L. S.; MONTEIRO, C. A. B. Relação treonina: lisina para alevinos de tambatinga (*Colossoma macropomum* x *Piaractus brachipomum*). **Boletim do Instituto de Pesca**, São Paulo, v.37, n.4, p. 393 – 400, 2011a.

ALENCAR ARARIPE, M. N. B.; ARARIPE, H. G. A.; LOPES, J. B.; CASTRO, P. L.; BRAGA, T. E. A.; FERREIRA, A. H. C.; ABREU, L. T. Redução da proteína bruta com suplementação de aminoácidos em rações para alevinos de tambatinga. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, n.9, p.1845-1850, 2011b.

ALEXANDRE, J.S. **Taxa de alimentação e frequência alimentar para surubins criados em tanque de rede**: desempenho produtivo e digestibilidade de proteína. Dissertação (Mestrado) -Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu, 2010. 51f.

ARARIPE, M.N.B.A. **Redução da proteína bruta e relações metionina+cistina e treonina digestíveis com a lisina digestível em rações para alevinos de tambatinga** [Tese]. Universidade Federal do Piauí; 2009.

ALMEIDA, R.T.; PALERMO NETO, J. Antimicrobianos como aditivos em animais de produção. In: Helenice de Souza Spinosa; Silvana Lima Górnaiak; Maria Martha Bernardi. (Org.). **Farmacologia Aplicada à Medicina Veterinária**. 4ªed .Rio de Janeiro - RJ: Guanabara Koogan SA, p. 641-658, 2006.

BALDISSEROTTO, B. **Fisiologia de peixes aplicada à piscicultura**. 3ª. ed. Santa Maria: Ed. Da UFSM, 2013. 352p.

BARBOSA, F. G. LIMA, M. A. S.; BRAZ-FILHO, R.; SILVEIRA, E. Iridoid and phenylethanoid glycosides from *Lippia alba*. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 34, p. 819-821, 2006.

BARROS, F. M. C.; ZAMBARDA, E. O.; HEINZMANN, B. M. Variabilidade sazonal e biossíntese de terpenóides presentes no óleo essencial de *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown (Verbenaceae). **Química Nova**, v. 32, p. 861-867, 2009.

BASMACIOĞLU MALAYOĞLU, H.; BAYSAL, S.; MISIRLIOĞLU, Z.; POLAT, M.; YILMAZ, H.; TURAN, N. Effects of oregano essential oil with or without feed enzymes on growth performance, digestive enzyme, nutrient digestibility, lipid metabolism and immune response of broilers fed on wheat-soybean meal diets. **British Poultry Science**, v. 51, n. 1, p. 67-80, 2010.

BECKER, A.G.; PARODI, T.V.; HELDWEIN, C.G.; ZEPPENFELD, C.C.; HEINZMANN, B.M.; BALDISSEROTTO, B. Transportation of silver catfish, *Rhamdia quelen*, in water with eugenol and the essential oil of *Lippia alba*. **Fish Physiology and Biochemistry**, 38: 789-796, 2015.

BELLAVER, C. **O uso de microingredientes (aditivos) na formulação de dietas para suínos e suas implicações na produção e na segurança alimentar**. In: CONGRESSO MERCOSUL DE PRODUÇÃO SUÍNA, 2000, Buenos Aires. Anais... Buenos Aires: FCV, UBA; FAV, UNRC; EMBRAPA, 2000. p.93-108.

BIZZO, H.R.; HOVELL, A.M. C.; REZENDE, C.M. Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. **Química Nova**, v.32, p. 588-594, 2009.

BRADFORD, M. M. "Rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding". **Analytical Biochemistry**, v. 72, n. 1-2, p. 248-254, 1976.

CITARASU, T. Herbal biomedicines: a new opportunity for aquaculture industry. **Aquaculture International**, v.18, p.403-414, 2010.

CORRÊA, C.B.V. Contribuição ao estudo de *Lippia alba* (Mill.) N. E. Br. ex Britt. & Wilson- erva-cidreira. **Revista Brasileira de Farmácia**, v.73, n. 3, p. 57-64, 1992.

CUNHA, M.A.; ZEPPEFELD, C.C.; GARCIA, L.O.; LORO, V.L.; FONSECA, M.B.; EMANUELLI, T.; VEECK, A.P.L.; COPATTI, C.E.; BALDISSEROTTO, B. Anesthesia of silver catfish with eugenol: time of induction, cortisol response and sensory analysis of fillet. **Ciência Rural**, v. 40, p. 2107-2114, 2010a.

CUNHA, M.A.; BARROS, F.M. C.; GARCIA, L.O.; VEECK, A.P.L.; HEINZMANN, B.M.; LORO, V.L.; EMANUELLI, T.; BALDISSEROTTO, B. Essential oil of *Lippia alba*: A new anesthetic for silver catfish, *Rhamdia quelen*. **Aquaculture**, 306: 403-406, 2010b.

DAY, M. D.; McANDREW, T. D. The biology and host range of *Falconia intermedia* (Hemiptera: Miridae), a potential biological control agent for *Lantana camara* (Verbenaceae) in Australia. **Biocontrol Science and Technology**, v. 13, p. 13-22, 2003.

DEMINICIS, B.B.; MARTINS, C. B. **Tópicos especiais em Ciência Animal II**: coletânea da 2ª Jornada Científica da Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Federal do Espírito Santo. Alegre, ES : CAUFES, 2013. 321 p.

DI STASI, L.C.; OLIVEIRA, G. P.; CAVALHAES, M. A.; QUEIROZ-JUNIOR, M.; TIEN, O. S.; KAKINAMI, S. H.; REIS, M. S. Medicinal plants popularly used in the Brazilian Tropical Atlantic Forest. **Fitoterapia**, v. 73, p. 69-91, 2002.

DO VALE, T.G.; FURTADO, E.C.; SANTOS Jr., J.G.; VIANA, G.S.B. Central effects of citral, myrcene and limonene, constituents of essential oil chemotypes from *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown. **Phytomedicine**, 9: 709-714, 2002.

DUBOIS, M.G., GILLES, K.A, HAMILTON, J.K., ROBERTS, P. A, SMITH, F., 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analytical Chemistry**. 28, 350-358.

EL-SAYED, S.A., EL-GALIL, S.Y.A. & RASHIED, N.A. 2014. Effects of some herbal plants as natural feed additives in comparison with antibiotic on growth performance and immune status of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). **International Journal of Research in Fisheries and Aquaculture**, 4 (1), 22-30.

EXTRATOS VEGETAIS. **Food Ingredients**. Brasil.v.11.2010.

FABREGAT, T. E.H.P. **Utilização do prebiótico flavofeed® como suplemento dietário para juvenis de tilápia do Nilo *Oreochromis niloticus***. (Dissertação de mestrado em aquicultura), UNESP, Jaboticabal-SP, 2006.42p.

FELIZARDO, V.O.; MURGAS, L. D. S.; WINKALER, E. U.; PEREIRA, G. J. M.; DRUMOND, M. M.; ANDRADE, E. S. Fator de condição relacionado a aspectos reprodutivos da Piapara (*Leporinus obtusidens*) (Characiformes: Anostomidae) Coletados a justante da usina hidrelétrica do funil, Minas Gerais, Brasil. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v.12, n.3, p. 471-477, jul./set. 2011.

FERREIRA, P.M.F. **Óleo essencial de orégano como promotor de crescimento para lambaris-do-rabo-amarelo (*Astyanax altiparanae*)**. Dissertação (mestrado). Universidade Federal de Viçosa. Viçosa/MG. 39f.. 2012.

FRECCIA, A. **Óleos essenciais na alimentação de reprodutores de Tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*)**. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Estadual do Oeste do Paraná, 2011. 69p.

GOMES, E. C.; MING, L. C.; MOREIRA, E. A.; MIGUEL, O. G. Constituents of the essential oil from *Lippia alba* (Mill) N. E. Br. (Verbenaceae). **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 74, p. 29-32, 1993.

GURGEL DO VALE, T. G.; COUTO FURTADO, E.; SANTOS JR, J. G.; VIANA, G. S. B. Central effects of citral, myrcene and limonene, constituents of essential oil chemotypes from *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown. **Phytomedicine**. v.9, p. 709-714, 2002.

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.

HELDWEIN, C. G.; SILVA, L. L.; RECKZIEGEL, P.; BARROS, F.M.C.; BÜRGER, M.E.; BALDISSEROTTO, B.; MALLMANN, C. A.; SCHMIDT, D.; CARON, B. O.; HEINZMANN, B. M. Participation of the GABAergic system in the anesthetic effect of *Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown essential oil. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 45, n. 5, p. 376-472, 2012.

HENNEBELLE, T., SAHPAZ, S., JOSEPH, H., BAILLEUL, F. Ethnopharmacology of *Lippia alba*. **Journal of Ethnopharmacology**, v.116 p.211-222, 2008.

HUYGHEBAERT, G.; DUCATELLE, R.; IMMERSEEL, F. V. An update on alternatives

to antimicrobial growth promoters for broilers. **The Veterinary Journal**, v. 187, n. 2, p. 182-188, 2011.

IMMANUEL, G., UMA, R. P. IYAPPARAJ, P., CITARASU, T., PUNITHA PETER, S. M., MICHAEL BABU, M., PALAVESAM, A. Dietary medicinal plant extracts improve growth, immune activity and survival of tilapia *Oreochromis mossambicus*. **Journal of Fish Biology**. v. 74, p. 1462-1475. 2009.

JUVEN, B. J.; KANNER, J.; SCHVED, F.; WEISSLOWICZ, H. Factors that interact with the antibacterial action of thyme essential oil and its active constituents. **Journal of Applied Bacteriology**, v.76, p.626-631. 1994.

KUMAR, V., MAKKAR, H.P.S., BECKER, K. Dietary inclusion of detoxified *Jatropha curcas* kernel meal: effects on growth performance and metabolic efficiency in common carp, *Cyprinus carpio* L. **Fish Physiology Biochemistry**. 36 (4), p.1159-1170, 2010.

LAZZARI, R.; NETO, J.; VEIVERBERG, C.A.; BERGAMIN, G.T.; CORRÊIA, V.; PEDRON, F.A. Alimentação do jundiá (*Rhamdia quelen*, heptateridae) com ingredientes proteicos. **Archivos de Zootecnia**, vol. 56, núm. 214, 2007, p. 115-123.

LEE, K. W.; EVERTS, H.; KAPPERT, H. J.; FREHNER, M.; LOSAB R.; BEYNEN A. C. Effects of dietary essential oil components on growth performance, digestive enzymes and lipid metabolism in female broiler chickens. **British poultry science**, v.44, n. 3, p. 450-457, 2003.

LIMA, B.T.M. **Adição do óleo de *Citrus sinensis* na dieta de tilápia-do-Nilo: desempenho produtivo, perfil hematológico e atividade respiratória de leucócitos**. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Centro de Aquicultura, 2015. 66f.

LUCHESE, F.C. **Óleos essenciais de orégano e alecrim na prevenção e no tratamento da diarreia neonatal em leitões**. Dissertação (mestrado). Universidade Federal de Santa Maria. 39p. 2009.

MEURER, F.; HAYASHI, C.; COSTA, M. M.; MAUERWERCK, V.L.; FRECCIA, A. Utilização de *Saccharomyces cerevisiae* como probiótico para tilápias-do-nilo durante o período de reversão sexual submetidas a um desafio sanitário. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, n.5, p.1881-1886, 2006.

MING, L. C., FIGUEIREDO, R. O., MACHADO, S. R., ANDRADE, R. M. C. Yield of essential oil of and citral content in different parts of lemongrass leaves (*Cymbopogon citratus* (D.C.) Stapf.) Poaceae. **Acta Horticulturae**, 26: 555-559, 1996.

MORAES, R.R.; ROSAS, A.F.; CHAGAS, E.C.; DAIRIKI, J.K.; CHAVES, F.V.; INOUE, L. A.; BOIJINK, C. **Respostas fisiológicas de pirarucu *Arapaima gigas* tratados com rações suplementadas com diferentes óleos essenciais.** In: Anais da IX Jornada de Iniciação Científica da Embrapa Amazônia Ocidental. Manaus, 320p. 2012.

MORO, G. V.; TORATI, L. S.; LUIZ, D. B.; MATOS, F. T. Monitoramento e manejo da qualidade da água em pisciculturas. In: RODRIGUES, A. P. O.; LIMA, A. F.; ALVES, A. L.; ROSA, D. K.; TORATI, L. S.; SANTOS, V. R. V. **Piscicultura de água doce: multiplicando conhecimentos.** Brasília, DF: Embrapa, 2013. 440 p.

MUHL, A.; LIEBERT, F.; Growth and parameters of microflora in intestinal and faecal samples of piglets due to application of a phytogetic feed additive. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition.** v.91, p. 411-418, 2007.

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 Immunologic and Immunopathology Research.** v.3, n.1, p.1-9., 2011.

NUNES, J.O.; BERTECHINI, A.G.;BRITO, J.A.; FASSANI, E.J.;MESQUITA, F.R.; MAKIYAMA, L.;MENEGHETTI, C. Evaluation of the probiotic (*Bacillus subtilis* C-3102) as additive to improve performance in broiler chicken diets. **Revista Brasileira de Zootecnia,** v.41, n.11, p.2374-2378, 2012.

OBA-YOSHIOKA, E.T.; ALMEIDA, R. S.; GEMAQUE, S. R. F.; BRASILIENSE, A. R. P.; SILVA, R. S.; MARINHO, R. G. B. Substituição parcial da ração comercial por soja e milho cozidos e sua influência sobre o cultivo de híbridos tambatingas. **Biota Amazônica,** Macapá, v. 5, n. 1, p. 61-67, 2015. Disponível em: <http://periodicos.unifap.br/index.php/biota> Acesso em: 18 de maio de 2016.

OLIVEIRA, M. N.; SIVIERI, K.; ALEGRO, J. H. A.; SAAD, S. M. I. Aspectos tecnológicos de alimentos funcionais contendo probióticos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas,** 38: 1-2p. 2002.

PASCUAL, M. E.; SLOWING, K.; CARRETERO, E.; SÁNCHEZ MATA, D.; VILLAR, A. *Lippia*: traditional uses, chemistry and pharmacology: a review. **Jornal of Ethnopharmacology.** v.76, p. 201-214, 2001.

PAULA, F.G. **Desempenho do tambaqui (*Colossoma macropomum*), de pirapitinga (*Piaractus brachypomum*), e do híbrido tambatinga (*Colossoma macropomum* x *Piaractus***

brachypomum) mantidos em viveiros fertilizados, na fase de engorda. Goiás, Brasil. 2009. 57f. Dissertação (Mestrado Ciência Animal), Universidade Federal de Goiás, Escola de Veterinária, 2009.

PINHEIRO, D.A.; SANTOS, E. F.; NEVES, L. R.; TAVARES-DIAS, M. Ectoparasitos em híbrido Tambatinga provenientes de piscicultura em tanque-rede no estado do amapá (brasil). **Boletim do Instituto de Pesca**, São Paulo, v.41, n.2, p. 409 - 417, 2015.

REIS ES; PINTO JEBP; BERTOLUCCI SKV; CORREA RM; PAULA JR; ANDRADE ST; FERRI PH. 2010. Seasonal variation in essential oils of *Lychnophora pinaster* Mart. **Journal of Essential Oil Research**, v. 22, n. 2, p. 147-149.

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**, 433. 50-61, 2014.

ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; FERES, F.A.; DIONIZIO, M.A.; VARGAS JUNIOR, J. **Utilização de probióticos e prebióticos em aves**. In: FERREIRA, C.L.F. (Ed.). *Prebióticos e probióticos: atualização e prospecção*. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, p.181-202. 2003.

SACCOL, E. M. H., J. UCZAY, T. S. PÊS, I. A. FINAMOR, G. M. OURIQUE, A. P. K. RIFFEL, D. SCHMIDT, B. O. CARON, B. M. HEINZMANN, S. F. LLESUY, LAZZARI, R.; BALDISSEROTTO, B.; M. A. PAVANATO. 2013. Addition of *Lippia alba* (Mill) N. E. Brown essential oil to the diet of the silver catfish: na analysis of growth, metabolic and blood parameters and the antioxidant response. **Aquaculture**, 416-417: 244-254.

SACCOL, E.M.H. **Adição do óleo essencial de *Lippia alba* (MILL) N.E. BROWN na dieta do jundiá**: análise do crescimento e da resposta antioxidante. Dissertação (mestrado) Universidade Federal de Santa Maria (UFSM-RS), 2013. 63.f.

SANTOS, E.L.; LUDKE, M.C.M.M.; LIMA, M.R. Extratos vegetais como aditivos em rações para peixes. **Revista Eletrônica Nutritime**, v.6 p-789-800.2009.

SANTOS, E. L.; SILVA, F. C. B.; PONTES, E. C.; LIRA, R. C.; CAVALCANTI, M. C. A. Resíduo do processamento do extrato de própolis vermelha em ração comercial para alevinos de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Comunicata Scientiae** v.4, ed.2, p.179-185, 2013.

SANTOS, V. G. **Própolis bruta em dietas para Tilápia-do-Nilo e ação antimicrobiana frente à *Aeromonas hydrophila***. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal Paulista - Faculdade de Medicina Veterinária. 94f. 2013.

SANTOS, E. L.; SOUZA, A. P. L.; PONTES, E. C.; GONZAGA, L. S.; FERREIRA, A. J. S. Folha de amendoeira (*Terminalia catappa*) como aditivo promotor de crescimento em rações para alevinos de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Revista AGROTEC** - v. 36, n. 1, p. 190-196, 2015.

SHALABAY, A.M.; KHATTABY, A.; ABDELL RAHMAM.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**. v.12, p.172-201. 2006.

SHUKLA, R.; KUMAR, A.; SINGH, P.; DUBEY, N. K. Efficacy of *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown essential oil and its monoterpene aldehyde constituents against fungi isolated from some edible legume seeds and aflatoxin B₁ production. **International Journal of Food Microbiology**. v.135, p.165-170, 2009.

SIANI, A. C.; SAMPAIO, A.L.F.; SOUSA, M.C.; HENRIQUES, M. G. M. O.; RAMOS, M. F. S. Óleos essenciais: potencial antiinflamatório. **Biotecnologia: Ciência e desenvolvimento**, v. 16, p. 38-43, 2000.

SILVA, T. R. G.; NASCIMENTO, M. C. O.; SILVA, N. C. Uso de óleos essenciais na dietas de suínos em substituição aos antimicrobianos. **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 4, n. 2, p. 70-73, 2010.

STASHENKO, E. E.; JARAMILLO, B. E.; MARTINEZ, J. R. Comparison of diferente extraction methods for the analysis of volatile secondary metabolites of *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown, grown in Colombia, and evaluation of its in vitro antioxidant activity. **Journal of Chromatography**, v. 1025, p. 93-103, 2004.

SOUSA, D. G.; SOUSA, S. D. G.; SILVA, R. E. R.; SILVA-ALVES, K. S.; FERREIRA-DA-SILVA, F. W.; KERNTOPF, M. R.; MENEZES, I. R. A.; LEAL-CARDOSO, J. H.; BARBOSA, R. Essential oil of *Lippia alba* and its main constituent citral block the excitability of rat sciatic nerves. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**. 2015, v.48, n.8, p.697-702.

SOUZA, C. F.; SALBEGO, J.; GRESSLER, L. T.; GOLOMBIESKI, J. I.; FERST, J. G.; CUNHA, M. A.; HEINZMANN, B. M.; CARON, B. O.; GLANZNER, W. G.; GONÇALVES, P. B. D.; BALDISSEROTTO, B. *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard, 1824), submitted to a stressful condition: effect of dietary addition of the essential oil of *Lippia alba* on metabolism, osmoregulation and endocrinology. **Neotropical Ichthyology**, 13(4): 707-714, 2015.

SUTILI, F.J.; CUNHA, M. A.; ZIECH, R. E.; KREWER, C. C.; ZEPPENFELD, C. C.; HELDWEIN, C. G.; GRESSLER, L. T.; HEINZMANN, B. M.; VARGAS, A. C.; BALDISSEROTTO, B. *Lippia alba* essential oil promotes survival of silver catfish (*Rhamdia quelen*) infected with *Aeromonas* sp. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**.2015 v.87, ed.1, p. 95-100.

TACHIBANA, L.; DIAS, D. C.; ISHIKAWA, C. M.; CORRÊA, C. F.; LEONARDO, A. F. G.; RANZANI-PAIVA, M. J. T. Probiótico na alimentação da tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1758), durante a inversão sexual: desempenho zootécnico e recuperação da bactéria probiótica intestinal. **Bioikos**, Campinas, v.25, ed.1, p.25-31, jan./jun., 2011.

TELES, S. et al. Geographical origin and drying methodology may affect the essential oil of *Lippia alba* (Mill) N.E. Brown. **Industrial Crops and Products**, v. 37, p. 247- 252, 2012.

TERBLANCHÉ, F. C.; KORNELIUS, G. Essential oil constituents of the genus *Lippia* (Verbenaceae) – A literature review. **Journal of Essential Oil Research**, v. 8, p. 471-485, 1996.

WILLIAMS, P.; LOSA, R. The use of essential oils and their compounds in poultry nutrition. **World Poultry**, v. 17, n. 4, p. 14-15, 2001.

YU- WEN. The benefits of oregano essential oil for aquaculture production. **International Aquafeed**, v.4, p.16-19.2009.

ZEPPENFELD, C.C.; HERNÁNDEZ, D.R.; HEINZMANN, B.M.; CUNHA, M.A.; SCHMIDT, D. ; BALDISSEROTTO, B. Essential oil of *Aloysia triphylla* as feed additive promotes growth of silver catfish (*Rhamdia quelen*). **Aquaculture Nutrition**. DOI: 10.1111/anu.12311. 2015.

ZHENG, Z.I.; TAN, J.Y.W.; LIU, H.Y.; ZHOU, X.H.; WANG, K, Y. Evaluation of oregano essential oil (*Origanum heracleoticum* L.) on growth antioxidant effect and resistance against *Aeromonas hydrophyla* in Channel catfish (*Ictalurus punctatus*). **Aquaculture**. v.292. p.214 - 218. 2009.

ANEXO A –
Normas da Revista Boletim do Instituto de Pesca

INSTRUÇÕES AOS AUTORES

(Atualizado em julho de 2016)

As normas do Boletim do Instituto de Pesca podem sofrer alterações. Portanto, não deixe de consultá-las antes de fazer a submissão de um novo artigo ou nota.

O *BOLETIM DO INSTITUTO DE PESCA (BIP)*, ISSN 0046-9939 (impresso) e ISSN 1678-2305 (*online*), site: <http://www.pesca.sp.gov.br/siteOficialBoletim.php>, está classificado atualmente no WEBQUALIS

como **B1** nas áreas de Ciências Ambientais e Engenharias I; e como **B2** em: Zootecnia e Recursos Pesqueiros; Medicina Veterinária; Ciências Agrárias II;. Seu índice de impacto no JCR é 0,525. Os arquivos eletrônicos contendo o original e demais documentos necessários devem ser encaminhados ao *Comitê Editorial do Instituto de Pesca*, pelo e-mail: ceipboletim@gmail.com.

O BIP é destinado à publicação de documentos originais (artigos científicos e notas científicas), que contribuam para a ampliação do conhecimento nas áreas de pesca (tecnologia de pesca, biologia pesqueira, sociologia e economia pesqueiras), aquicultura, limnologia, ecologia aquática, tecnologia e sanidade do pescado e patologia de organismos aquáticos.

É publicado um volume por ano, com o pertinente número de fascículos.

O processo de avaliação utilizado pelo *Comitê Editorial do Instituto de Pesca* é o sistema por pares “blind review”, ou seja, sigilo sobre a identidade, tanto dos autores quanto dos revisores, que será mantido durante todo o processo.

O periódico também aceita e incentiva submissões de artigos redigidos em inglês ou espanhol. Em caso de autores não nativos de países que falem estas línguas, o artigo deverá ser revisado por um especialista que o próprio *Comitê Editorial do Instituto de Pesca* poderá indicar.

Todo trabalho submetido ao Boletim será avaliado preliminarmente pelo Comitê Editorial e, se superar essa primeira triagem, será enviado para dois revisores especialistas na área abordada. A publicação se dará somente com a aprovação do documento pelos revisores, cabendo ao *Comitê Editorial do Instituto de Pesca* a decisão final do aceite.

A seleção dos artigos será baseada na originalidade, qualidade e mérito científico.

O Comitê Editorial tomará o cuidado para que os revisores de cada artigo sejam, obrigatoriamente, de instituições distintas daquelas de origem dos autores.

As opiniões emitidas nos trabalhos são de exclusiva responsabilidade de seus autores.

O Boletim do Instituto de Pesca reserva-se o direito de realizar pequenas adaptações nos originais visando manter a uniformidade da publicação.

Tipos de documentos publicáveis no BIP

Artigo Científico

Trabalho resultante de pesquisa científica, **apresentando dados originais** obtidos de forma planejada, com base em métodos cientificamente aceitos, rigorosamente controlados e com planejamento estatístico adequado, que possam ser replicados e generalizados. A discussão deve ser criteriosa, com base científica sólida; não deve se limitar a comparações dos resultados com a literatura, mas apresentar inferências, hipóteses e argumentação sobre o que foi estudado.

Nota Científica

Comunicação curta de fato inédito resultante de pesquisa científica, cuja divulgação imediata se justifica, mas com informações insuficientes para constituir um artigo científico. Incluem-se nesta categoria a descrição de uma técnica, o registro da descoberta de uma nova espécie, observações e levantamentos de resultados de experimentos que não podem ser repetidos, e outras situações únicas. Deve ter o mesmo rigor de um Artigo Científico e conter os elementos necessários para avaliação dos argumentos apresentados.

PROCEDIMENTOS EDITORIAIS

Custo de publicação

O custo é de R\$ 40,00 (quarenta reais) por **página final editorada** para publicação. No ato da submissão é requerido um depósito de R\$ 100,00 (cem reais) **não reembolsáveis**, mas deduzido do custo final dos artigos aprovados.

Os depósitos ou transferências deverão ser efetuados em nome da FUNDAG, no Banco do Brasil: agência 3360-X - conta corrente 4200-5, **código de identificação do depósito: 1161**. O comprovante de depósito ou transferência deve ser enviado para o e-mail do Comitê Editorial (ceipboletim@gmail.com), junto com o original submetido. Para a

emissão de recibo da FUNDAG, enviar os seguintes dados: Nome, CPF, telefone e endereço completo (incluir o bairro).

Submissão de trabalho

O trabalho deverá ser enviado **via e-mail**, devidamente identificado, **em arquivo do WORD**.

Em trabalhos que envolvam a manipulação de vertebrados deve ser encaminhado um atestado de que a pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética e Biossegurança da instituição de origem da pesquisa.

Após a aprovação do trabalho, deverá ser encaminhado ao Comitê Editorial o documento **Cessão de Direitos Autorais e Autorização para Publicação em Meio Eletrônico**, contendo apenas a assinatura do autor responsável pela submissão do trabalho, e cujo modelo está em: <http://www.pesca.sp.gov.br/siteOficialBoletim.php>.

Avaliação do trabalho

1. O trabalho submetido será em primeira instância avaliado pelo *Comitê Editorial*.
2. Após aprovação preliminar pelo *Comitê Editorial*, e segundo a ordem cronológica de recebimento, o trabalho será enviado a no mínimo dois revisores de reconhecida competência no assunto abordado. Em seguida, se necessário, retornará ao(s) autor(es) para modificações/correções. O retorno do texto poderá ocorrer mais de uma vez, se assim o(s) revisor(es) solicitar(em).
3. O trabalho será aceito para publicação se tiver dois pareceres favoráveis, ou rejeitado quando pelo menos dois pareceres forem desfavoráveis. No caso de pareceres contraditórios entre os revisores, o trabalho será enviado a um terceiro revisor.
4. O trabalho aceito retornará ao(s) autor(es) para ultimar eventuais alterações propostas e realizar rigorosa revisão, antes que o documento seja submetido ao processo de editoração e formatação ao estilo do Boletim. O prazo para devolução dessa versão final revisada será de sete dias.

ATENÇÃO: se o trabalho for rejeitado na avaliação prévia do Comitê Editorial (por inadequação às normas do BIP, por não se enquadrar no escopo temático da revista, por problemas redacionais [impropriedades linguísticas, morfológicas ou sintáticas] ou por falta de qualidade técnica) ou

na avaliação final dos revisores “ad hoc”, o depósito não será devolvido, nem poderá ser reutilizado para outras submissões dos autores.

Disposições finais

Casos omissos serão avaliados pelo *Comitê Editorial do Instituto de Pesca*.

FORMATAÇÃO E ESTRUTURAÇÃO DO TRABALHO

Instruções gerais

O trabalho deve ser digitado no editor de texto Microsoft Word, de acordo com a seguinte formatação: fonte Book Antiqua, tamanho 11; espaçamento entre linhas: 1,5; tamanho da página: A4; margens esquerda e direita: 2,5 cm; margens superior e inferior: 3,0 cm; número máximo de páginas, incluindo Figura(s) e/ou Tabela(s) e Referências: Artigo Científico: até 25 páginas; Nota Científica: até 15 páginas. As **linhas devem ser numeradas sequencialmente, da primeira à última página**. As páginas também devem ser numeradas. As notas de rodapé devem estar no texto.

Estrutura de Artigo Científico

A estrutura para o Artigo Científico é a seguinte: Título, Autor(es), Endereços institucionais (completos) e eletrônicos, Resumo, Palavras-chave, Título em inglês, Abstract, Key words, Introdução, Material e Métodos, Resultados, Discussão, Conclusões, Agradecimentos (opcional), Referências.

O Título, o Resumo e as Palavras-chave devem ser traduzidos para o inglês, no caso de artigos redigidos em português ou espanhol, e para o português, no caso de artigos redigidos em inglês ou espanhol.

Os termos: Introdução, Material e Métodos, Resultados, Discussão, Conclusões, Agradecimentos e Referências devem ser alinhados à esquerda e grafados em letras maiúsculas e em negrito.

TÍTULO

Deve ser claro e conciso (não deve se estender por mais do que duas linhas ou dez

palavras), redigido em português e inglês ou, se for o caso, em espanhol, inglês e português. Deve ser grafado em letras maiúsculas e centralizado na página. No caso de trabalho desenvolvido com auxílio financeiro, informar na primeira página qual o agente financiador, indicado com asterisco, também aposto ao final do título. Recomenda-se que não seja inserido o nome científico da espécie e a referência ao seu descritor, a não ser que seja imprescindível (no caso de espécies pouco conhecidas).

NOME DO(S) AUTOR(ES)

Deve(m) ser apresentado(s) completo(s) e na ordem direta (prenome e sobrenome), com apenas o sobrenome pelo qual o(s) autor(es) deve(m) ser identificado(s) em caixa alta. A filiação do(s) autor(es), bem como um endereço completo para correspondência e um e-mail deverão ser colocados na primeira página, logo após o nome dos autores, sendo identificado(s) por números arábicos, separados por vírgula quando necessário.

Obs: Não serão aceitos trabalhos com mais de seis autores

RESUMO e Palavras-chave

O Resumo deve conter concisamente os objetivos, a metodologia, os resultados obtidos e as conclusões, utilizando no máximo 200 (duzentas) palavras. Deve ser redigido de forma que o leitor se interesse pela leitura do trabalho na íntegra.

Palavras-chave: no mínimo três (3) e no máximo seis (6), redigidas em letras minúsculas e separadas por ponto e vírgula. Não devem repetir palavras que constem do Título e devem identificar o assunto tratado, permitindo que o artigo seja encontrado no sistema eletrônico de busca.

ABSTRACT e Key words

Devem ser estritamente fiéis ao Resumo e Palavras-chave.

INTRODUÇÃO

Deve ocupar, preferencialmente, no máximo duas páginas, apresentando o problema científico a ser solucionado e sua importância (justificativa para a realização do trabalho), bem como a evolução/situação atual do assunto pesquisado. O último parágrafo deve expressar o objetivo, sendo coerente com o que consta no Resumo.

MATERIAL E MÉTODOS

Deve descrever sucintamente toda a metodologia utilizada, organizada de preferência

na ordem de aplicação e de modo que o experimento possa ser reproduzido. Este item pode variar de acordo com a natureza temática do documento, mas em geral deve conter a descrição do procedimento amostral local, frequência, período, instrumento e métodos, outras variáveis relevantes ou o delineamento do experimento, a descrição dos tratamentos e das variáveis, o número de repetições e as características da unidade experimental. Deve informar sobre procedimentos estatísticos e transformações de dados. Deve-se evitar detalhes supérfluos, extensas descrições de técnicas de uso corrente e a utilização de abreviaturas não usuais.

RESULTADOS

Os Resultados devem ser apresentados em separado da Discussão. E isto pode ser feito textualmente ou sob a forma de Tabelas e/ou Figuras. Dados apresentados em Tabelas ou Figuras não devem ser repetidos sistematicamente no texto.

Tabelas:

Devem ser numeradas com algarismos **arábicos** e encabeçadas pelo Título (autoexplicativo). Recomenda-se que os dados apresentados em tabelas não sejam repetidos em gráficos, a não ser quando absolutamente necessário. As tabelas devem ter, no máximo, 16 cm de largura. As tabelas devem ser em formato “retrato” e não ultrapassar uma página. Abreviaturas também devem ser evitadas, a não ser para unidades de medida. Se necessárias, porém, devem ter seu significado indicado em legenda sob a tabela.

Figuras (gráficos, desenhos, mapas ou fotos):

Devem ter, **no máximo**, 16 cm de largura e 21 cm de altura, ser numeradas com algarismos arábicos, com título autoexplicativo logo abaixo. Palavras em gráficos e mapas devem estar em fonte legível. **Não** inserir gráficos, mapas ou fotos em tabelas ou quadros. Os gráficos não devem ter linhas de grade nem margens.

Tabelas e figuras devem ser inseridas no item mais apropriado no transcrito do texto. Os originais de desenhos, mapas e fotos devem ser enviados em arquivos distintos, preferencialmente em formato digital “tif” ou “jpeg”, e permitir redução para 16 cm ou 7,5 cm de largura **sem perda de definição**.

DISCUSSÃO

A Discussão deve ser elaborada e não apenas uma comparação dos dados obtidos com os disponíveis em literatura. Deve focar e demonstrar as principais ideias e contribuições trazidas pelo trabalho, bem como comentar se há necessidade de novas pesquisas ou sobre eventuais limitações encontradas. Evitar repetir números já constantes dos resultados. A Discussão deve conter hipóteses e/ou comentários objetivos sobre os resultados, discutidos à luz de observações constantes da literatura especializada.

CONCLUSÃO

A Conclusão deve ser clara, concisa e responder ao objetivo do estudo. Deve, idealmente, ser capaz de propor uma solução (ou caminho de solução) para a demanda/problema, com base nos resultados obtidos.

AGRADECIMENTOS (opcional)

Devem ser sucintos, dirigidos a Instituição ou pessoa que tenha efetivamente colaborado para a realização do trabalho. De preferência, não deve ultrapassar cinco linhas.

Estrutura de Nota Científica

A Nota Científica deve seguir ordenação similar à de um Artigo Científico, contendo Título, Autor, Endereços institucional e eletrônico, Resumo, Palavras-chave, Título em inglês, Abstract, Key words, Introdução, Material e Métodos, Resultado(s) e, eventualmente, Discussão, Agradecimento(s) (opcional) e Referências. Resultados e Discussão, neste caso, podem ser apresentados como item único.

A formatação segue o mesmo padrão, mas com no máximo 15 páginas (incluindo tabelas e figuras).

Obs: Não serão aceitos trabalhos com mais de seis autores

REFERÊNCIAS (normas para TODOS os tipos de publicação)

Devem ser apresentadas em ordem alfabética do sobrenome dos autores, sem numeração.

Devem conter os nomes de todos os autores, ano de publicação, o título do artigo (por extenso) e do periódico (também por extenso), número do volume e/ou edição e número e/ou intervalo de páginas.

A exatidão e adequação das referências a trabalhos que tenham sido citados no texto são de responsabilidade do autor.

Dissertações e teses devem ser evitadas como referências. Porém, aceita-se quando absolutamente necessárias, mas devem estar disponíveis *on-line*.

Trabalhos de conclusão de graduação e resumos apresentados em congressos não são referências válidas.

Observação: inadequações nas referências também acarretarão a recusa do trabalho e a não devolução da taxa de submissão.

Como fazer citações no texto

Usar o sistema autor/data, ou seja, o sobrenome do autor em letras **maiúsculas** e o ano em que a obra foi publicada. Exemplos:

* para um autor: "MIGHELL (1975) observou..."; "Segundo AZEVEDO (1965), a piracema..."; "Estas afirmações foram confirmadas em trabalhos posteriores (WAKAMATSU, 1973)".

* para dois autores: "RICHTER e EFANOV (1976) pesquisando..." Se o artigo que está sendo submetido estiver redigido em português, utilizar "e" ligando os sobrenomes dos autores. Se estiver redigido em inglês utilizar "and" (RICHTER and EFANOV, 1976), se em espanhol, utilizar "y" (RICHTER y EFANOV, 1976).

* para três ou mais autores: o sobrenome do primeiro autor deve ser seguido da expressão "*et al.*" (*grafada em itálico*). Exemplo: "SOARES *et al.* (1978) constataram..." ou "Tal fato foi constatado na África (SOARES *et al.*, 1978)."

* para o mesmo autor, em documentos de anos diferentes, respeitar a ordem cronológica, separando os anos por vírgula. Exemplo: "De acordo com SILVA (1980, 1985)..."

* para citação de vários autores sequencialmente, respeitar a ordem cronológica do ano de publicação e separá-los por ponto e vírgula. Exemplo: "...nos viveiros comerciais (SILVA, 1980; FERREIRA, 1999; GIAMAS e BARBIERI, 2002)..."

* quando for **ABSOLUTAMENTE** necessário se referir a um autor, ainda que não em razão de uma consulta direta ao trabalho por ele publicado, o nome desse autor deve ser citado em letras minúsculas apenas no texto, indicando-se logo a seguir, entre vírgulas e precedido da palavra latina *apud*, o nome do autor e ano do trabalho efetivamente consultado no qual aparece a referência ao autor não diretamente lido. Ex.: "Segundo Gulland, *apud* SANTOS (1978), os coeficientes..."

Como fazer citações na listagem de REFERÊNCIAS

1. DE DOCUMENTOS IMPRESSOS

Artigos científicos são listados como segue:

* para dois autores, relacionar o documento referido no texto pelo sobrenome dos autores em letras maiúsculas, cada qual seguido das iniciais dos prenomes (separadas por ponto e sem espaço), conectados por “e”, “and” ou “y”, se o texto submetido for redigido em português, inglês ou espanhol, respectivamente. Exemplo:

IRSHADULLAH, M. e MUSTAFA, Y. 2012 Pathology induced by *Pomporhynchus kashmiriensis* (Acanthocephala) in the alimentary canal of naturally infected Chirruh snow trout, *Schizothorax esocinus* (Heckel). **Helminthology**, n^o. 49, p. 11-15, 2012.

* Para mais de dois autores, os nomes devem ser ordenados como citado acima, mas separados por ponto e vírgula. Exemplo:

SQUADRONE, S.; PREARO, M.; BRIZIO, P.; GAVINELLI, S.; PELLEGRINO, M.; SCANZIO, T.; GUARISE, S.; BENEDETTO, A.; ABETE, M.C. 2013 Heavy metals distribution in muscle, liver, kidney and gill of European catfish (*Silurus glanis*) from Italian rivers. **Chemosphere**, n^o 90, p. 358-365, 2013.

As referências devem ser ordenadas alfabeticamente pelo sobrenome do autor principal. Havendo mais de uma obra com o mesmo sobrenome, considera-se a ordem cronológica e, persistindo a coincidência, a ordem alfabética do terceiro elemento da referência.

Recordando, após o nome dos autores, inserir o título do artigo, o título do periódico (em negrito, que, repetindo, **NÃO DEVE SER ABREVIADO**), o volume, o fascículo e o intervalo de páginas.

A citação de dissertação e tese, tipos de documentos que se pode utilizar apenas quando ABSOLUTAMENTE necessário e se estiverem disponível *on line*, deve ser feita como segue:

BERNADOCHI, L.C. **Captção de sementes em coletores artificiais e cultivo da ostra perlífera *Pinctada imbricata* (Mollusca: Pteriidae), São Paulo, Brasil. 2012. 75f.** Dissertação (Mestrado em Aquicultura e Pesca) Instituto de Pesca, APTA, SAA - São Paulo, 2012. Disponível em: <<http://www.pesca.sp.gov.br/dissertacoes.pg.php>> Acesso em: 22 ago. 2014.

Para livro, também utilizado apenas quando ABSOLUTAMENTE necessário, a citação deve ser:

GOMES, F.P. **Curso de estatística experimental**. 8ª ed. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, 1978. 430p.

ENGLE, R.F. e GRANGER, C.W.J. **Long run economic relationship: readings in cointegration**. New York: Oxford University Press, 1991. 301p.

NEW, M.B.; VALENTI, W.C.; TIDWELL, J.H.; D’ABRAMO, L.R.; KUTTY, M.N. **Freshwater prawns: biology and farming**. Wiley-Blackwell, Oxford, 2010. 544p.

Capítulo de livro ou publicação em obra coletiva, cita-se:

MORAES-VALENTI, P. e VALENTI, W.C. Culture of the Amazon river prawn *Macrobrachium amazonicum*. In: NEW, M.B.; VALENTI, W.C.; TIDWELL, J.H.; D’ABRAMO, L.R.; KUTTY, M.N. **Freshwater prawns: biology and farming**. Wiley-Blackwell, Oxford, 2010. p. 485-501.

Leis, Decretos, Instruções Normativas e Portarias são incluídas na listagem como segue:

BRASIL, Constituição da República Federativa do Brasil. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 5 out. 1988, nº. 191-A, Seção 1, p. 1.

BRASIL, Decreto nº. 98.897, de 30 de janeiro de 1990. Dispõe sobre as reservas extrativistas e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 31 jan. 1990, nº. 22, Seção 1, p. 2.

BRASIL, Instrução Normativa nº. 02, de 18 de setembro de 2007. Disciplina as diretrizes, normas e procedimentos para formação e funcionamento do Conselho Deliberativo de Reserva Extrativista e de Reserva de Desenvolvimento Sustentável. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 20 set. 2007, nº. 182, Seção 1, p. 102.

ICMBIO – Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade. Portaria nº. 77, de 27 ago. 2010. Cria o Conselho Deliberativo da Reserva Extrativista Marinha de Arraial do Cabo/RJ. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 1 set. 2010, nº. 168, Seção 1, p. 69.

2. DE MEIOS ELETRÔNICOS (periódicos publicados exclusivamente *on line*; documentos consultados *online* e em CD-ROM)

Exemplos:

CRUZ, G.M. da; ESTEVES, S.N. Melhores práticas de manejo na produção do catfish. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 3, p. 635-645, 2004. Disponível em: <http://www.revistabrasileiradezoologia/artigo/index.php?artigos>> Acesso em: 27 jan. 2016.

CASTRO, P.M.G. (sem data, *on line*) **A pesca de recursos demersais e suas transformações temporais**. Disponível em: <<http://www.pesca.sp.gov.br/textos.php>> Acesso em: 3 set. 2014.

TOLEDO PIZA, A.R.; LOBÃO, V.L.; FAHL, W.O. Crescimento de *Achatina fulica* (gigante africano) (Mollusca: Gastropoda) em função da densidade de estocagem. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA PARA O PROGRESSO DA CIÊNCIA, 55., 2003, Recife. **Anais...** Recife: Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência, 2003. 1 CD-ROM.

INSTRUÇÕES COMPLEMENTARES

1. Fórmula, expressão e equação matemática

As fórmulas, expressão e equação matemática devem ser inseridas no texto (não utilizar figura). Exemplo: $TE = (N/F_m) \times 100$.

2. Unidade de medida

Deve ser apresentada segundo o Sistema Internacional de Unidades (SI). Exemplo: 10 m²; 100 peixes m⁻¹; 20 t ha⁻¹.

3. Número de casas decimais

Deve ser padronizado para todo o texto. Por exemplo, grafado o comprimento dos exemplares amostrados com uma casa decimal, em todo o texto os valores referentes a esse parâmetro devem ser grafados com uma casa decimal.

4. Anexo e apêndice

Devem ser suprimidos anexos e apêndices.

* * * * *