

Universidade Federal de Minas Gerais

Túlio Soares de Brito

Orégano em dietas
para tilápia nilótica (*Oreochromis niloticus*)

Belo Horizonte

2013

Túlio Soares de Brito

Orégano em dietas para tilápia nilótica (*Oreochromis niloticus*)

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Zootecnia
Área de concentração: Nutrição Animal
Profa. Orientadora: Paula Adriane Perez Ribeiro.

Agradecimentos

Sou grato a Deus e a todos os amigos que de alguma forma estiveram presentes ao longo deste trabalho, e que sem eles não seria possível.

A meus pais Célio e Cristina, que pela orientação firme, companheirismo e carinho me estimularam e me deram forças para sempre estar seguindo em frente.

Aos meus irmãos, Thiago e Talita, grandes amigos, que possuem a capacidade de tornar os momentos mais pesados mais leves e serenos.

Aos professores do LAQUA , Paula, Edgar, Eduardo Turra, Kleber, Ronald e Daniela que com muita paciência e atenção me receberam, me orientaram e fizeram com que me sentisse muitas vezes em casa.

Aos companheiros dos LAQUA, Samuel, Gabriel, Erika, Amanda, Laura, Arthur, Rodrigo, Deliane, Nelmara, Walisson, Márcio, Thiago , Lucas e Narrayan, amizades muito boas foram e ainda serão construídas.

Ao colegiado de pós- graduação, pela atenção e paciência, e a todos os professores, e alunos da graduação e da pós- graduação, que de alguma forma estiveram presentes durante a realização deste trabalho.

Dedicatória

Dedico este trabalho aos amigos e Mestres que já não estão mais entre nós, mas que de alguma maneira continuam a contribuir em minha caminhada, principalmente pelo exemplo e sabedoria.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	6
2	REVISÃO DE LITERATURA	11
2.1	ORÉGANO COMO ADITIVO NA ALIMENTAÇÃO ANIMAL	19
3	MATERIAL E MÉTODOS	24
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	32
5	CONCLUSÕES.....	40
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS	40
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	41

Lista de Tabelas

Tabela 1. Composição percental das dietas experimentais.....	27
Tabela 2 – Consumo de ração (%), ganho de peso médio (GP, %), taxa de crescimento específico (TCE, % dia ⁻¹) e conversão alimentar (CA) de juvenis de tilápia alimentados com dietas contendo níveis crescentes de orégano.....	35
Tabela 3 - Coeficientes de digestibilidade (%) da matéria seca (CMS), matéria orgânica (CMO), extrato etéreo (CEE), proteína bruta (CPB), energia bruta (CEB) e altura das vilosidades intestinais (VIL,µm) para juvenis de tilápia alimentados com dietas contendo níveis crescentes de orégano.....	38
Tabela 4 - Peso vivo (PV, em gramas), peso do fígado (FIG, em gramas) e do filé (FILE, em gramas), rendimento de filé (RF), índice hepatossomático (IHS), e terores de extrato etéreo (%), proteína bruta (%) e energia bruta (kcal g ⁻¹), expressos com base na matéria seca, de juvenis de tilápia recebendo níveis crescentes de orégano na ração.	42
Tabela 5 – Valores sanguíneos de glicose (GLIC, mg ml ⁻¹), hematócrito (Hmt, %) e proteína total (g dL ⁻¹) de juvenis de tilápia alimentados com níveis crescentes de orégano na ração	44

Lista de Figuras

Figura 1. Estrutura química dos compostos fenólicos presentes no orégano	22
Figura 2. Coeficiente de digestibilidade (%) da energia bruta para juvenis de tilápia alimentadas com níveis crescentes de orégano na ração	39

Resumo

O uso de aditivos alimentares, capazes de melhorar o desempenho dos animais, é uma ferramenta de grande interesse para a nutrição animal. O objetivo do presente trabalho foi avaliar a capacidade promotora de crescimento da inclusão de folhas secas de orégano. Foram utilizados 280 juvenis machos de tilápia nilótica (*Oreochromis niloticus*), com peso médio inicial de $98,75 \pm 8,83\text{g}$, alojados em 28 tanques com capacidade de 100L cada, durante 40 dias, consumindo níveis crescentes de orégano (0, 0,025, 0,050, 0,075, 0,100, 0,125 e 0,150%) na ração. Avaliou-se o ganho de peso, consumo e conversão alimentar. Os coeficientes de digestibilidade da proteína, energia e extrato etéreo foram determinados pelo método indireto com óxido de cromo como indicador inerte. Foi coletado sangue dos animais para avaliação de glicose, hematócrito e proteína total. Para a análise de morfometria da mucosa intestinal foram coletados fragmentos de aproximadamente 5 cm de comprimento da porção inicial do intestino. As análises estatísticas foram realizadas com o auxílio do programa SAEG – Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas (UFV, 1997), sendo as médias dos tratamentos submetidas a estudos de regressão. De acordo com as equações obtidas estimou-se que as inclusões de 0,043, 0,051 ou 0,039% podem melhorar em 0,21, 1,04 e 0,52% a digestibilidade da matéria seca, matéria orgânica e energia, respectivamente. Para as outras variáveis não foram verificados efeitos significantes, permitindo concluir que a inclusão de orégano nos níveis avaliados não prejudica a saúde dos animais.

Abstract

The use of feed additives capable of improve animal performance and is a tool of great interest for animal nutrition. The aim of this study was to evaluate the ability of growth promotion by the inclusion of dry leaves of oregano. 280 male juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) were used with an initial average weight of 98.75 ± 8.83 g, housed in 28 tanks each with a capacity of 100L for 40 days, consuming increasing levels of oregano (0, 0.025, 0.050, 0.075, 0.100, 0.125 and 0.150%) in the diet. Were evaluated weight gain, feed intake and feed. The digestibility of protein, energy and ether extract were determined by the indirect method with chromic oxide as an inert indicator. Blood was collected from animals for glucose, hematocrit and total protein evaluation. For the morphometric analysis of the intestinal mucosa were collected fragments of approximately 5 cm length of the initial portion of the intestine. Statistical analyzes were performed with the aid of the program SAEG - Analysis System Statistics and Genetics (UFV, 1997) and the treatment means were subjected to regression studies. According to the equations, it was estimated that the inclusions of 0.043, 0.051 or 0.039% can improve by 0.21, 1.04 and 0.52% the digestibility of dry matter, organic matter and energy, respectively. For the other variables no significant effects were observed, allowing to conclude that the evaluated levels of oregano inclusion did not presented any change in animals health.

1 Introdução

A balança comercial brasileira de pescado em 2010 apresentou um déficit de US\$ 748 milhões, equivalente a aproximadamente 247.387.114 kg (BRASIL, 2010). O consumo per capita de pescado nacional em 2010 foi de 9,75 kg/hab/ano, o que representa um potencial de crescimento de aproximadamente 7 kg/hab/ano, considerando-se um consumo mundial de 17 kg/hab/ano (FAO, 2012). A aquicultura, nesse sentido, assume um papel fundamental para atender essa demanda de fornecimento de alimentos com elevado valor nutricional, considerando a capacidade e a evolução histórica da exploração de recursos pesqueiros. A aquicultura vem sendo a atividade que mais cresce no setor de produção de alimentos, com uma média anual de 8,9% ao ano desde 1970, comparado com somente 1,2% ao ano da pesca, e 2,8% ao ano para sistemas de produção de carne terrestre no mesmo período (FAO, 2012).

A tilápia, segunda espécie de água doce mais cultivada no mundo, é um peixe ciclídeo teleósteo africano, cuja capacidade de adaptação, potencial de crescimento em ambiente de criação, tanto em regimes intensivos quanto extensivos, e a qualidade e aceitação da carne pelo mercado consumidor, são fatores determinantes para que se difunda por diferentes regiões do mundo. Embora venha apresentando uma produção anual de carne crescente, frente à competição pela utilização de recursos naturais, principalmente água e grãos, também utilizados em outros sistemas produtivos, existe uma tendência de desaceleração deste crescimento (FAO, 2012).

Em regimes intensivos de criação, a maximização do uso de recursos envolvidos na produção pode garantir maior lucratividade e redução do impacto ambiental. Nestes sistemas usam-se dietas completas e balanceadas para permitir ao animal manifestar todo seu potencial genético de crescimento. No entanto, o fornecimento de uma dieta que se limite em atender somente às exigências nutricionais para determinada taxa de crescimento, não é garantia que esta será alcançada.

Com a intensificação da produção, os animais ficam sujeitos a um ambiente mais desafiador, aumentando a ocorrência de doenças, que podem se manifestar de maneira clínica ou subclínica. Faz-se assim necessário fazer uso de ingredientes, que por suas propriedades favoreçam a adaptação a sistemas intensivos de criação. Atuam, de maneira geral, promovendo a saúde do organismo, tornando, assim, os processos fisiológicos mais eficientes. Podem atuar promovendo a digestibilidade e eficiência de utilização dos nutrientes, colonização do trato digestivo por bactérias benéficas, favorecendo o metabolismo e atividade imune do organismo e ainda reduzir o estresse oxidativo, a qual o organismo animal fica exposto quando em regimes de criação desafiadores.

O orégano é uma planta que há centenas de anos está presente na culinária e medicina, cujos benefícios à saúde vêm sendo cada vez mais explorados. Por apresentar em sua constituição elementos capazes de estimular os mecanismos de defesa do organismo, com potencial antioxidante e modulador da microbiota intestinal, possui também potencial de aplicação para a nutrição animal. Considerando que, quando adicionada em pequenas

quantidades na dieta, pode melhorar o desempenho dos animais, bem como a qualidade do produto final.

Portanto, o objetivo do trabalho foi avaliar a capacidade de folhas secas de orégano em promover o crescimento estimulando eficiência de utilização dos nutrientes da dieta por juvenis de tilápia nilótica.

2 Revisão de literatura

O adensamento de animais por volume d'água, comum em sistemas intensivos de criação, é um fator estressante capaz de reduzir direta e indiretamente a capacidade de defesa do organismo, pelo intenso contato entre indivíduos e degradação da qualidade da água (Ferreira et al., 2011).

As repostas ao stress incluem interações entre seu eixo endócrino e o sistema imune (Flik et al., 2006). A ativação do eixo endócrino se inicia pela liberação do fator liberador de corticoides (CRF), que, além de estimular a liberação do hormônio adrenocorticotrófico (ACTH), é se relaciona com a supressão do apetite e comportamento alimentar, e estimula a atividade locomotora (Pankhurst, 2011). Com a ativação deste eixo e conseqüente elevação dos níveis de corticoides plasmáticos, em situações de stress crônico, ocorrem alterações

metabólicas, tais como estimulação da gliconeogênese, elevação do *turnover* proteico, regulação do metabolismo de aminoácidos com elevação da atividade das enzimas glutamina sintetase, aminotransferases, glutamato sintetase e ainda elevação da lipólise, que se relacionam com redução da taxa de crescimento, uma vez que refletem o esforço do organismo em manter sua homeostase (Mommensen et al., 1999).

As alterações metabólicas oriundas de uma condição de stress crônico também podem provocar imunossupressão, uma vez que são reduzidas as contagens de linfócitos B circulantes, proteínas do sistema complemento, imunoglobulinas e aumento da secreção de citocinas anti-inflamatórias (Tort, 2011). Nesta condição é elevada a probabilidade de ocorrência de surtos de doenças, fazendo-se assim necessárias ferramentas que favoreçam a adaptação dos animais ao ambiente de cultivo, mitigando os prejuízos do stress crônico. Determinadas intervenções nutricionais são capazes de restabelecer os sistemas de defesa do organismo a normalidade, auxiliando na prevenção e resistência a doenças (Trichet, 2010).

Aditivo alimentar pode ser uma substância, micro-organismo ou produto formulado, que não é normalmente utilizado como ingrediente, que tenha ou não valor nutritivo e que melhore as características dos produtos destinados à alimentação animal ou que melhore seu desempenho (BRASIL, 2004).

Diversos antibióticos foram usados com sucesso para se controlar doenças de peixes, incluindo amoxicilina, enrofloxacina, eritromicina, furazolidona e oxitetraciclina (Smith et. al., 1994). O seu uso como promotor de crescimento vem sendo, entretanto, amplamente

criticado, pois quando adicionados às dietas, em pequenas proporções (2,5 a 50 ppm), tem sido associado ao surgimento de cepas de bactérias resistentes incluindo *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp., *Escherichia coli* e *Enterococcus* spp, *Aeromonas* spp., *Vibrio vulnificus*, *V. parahaemolyticus* e *V. cholerae* (Cabello, 2006; W.H.O., 2011).

Possíveis alterações na microbiota intestinal pela administração de antibióticos podem comprometer a relação benéfica entre hospedeiro e microbiota. Normalmente patógenos oportunistas estão presentes em quantidade reduzida, não representando um risco significativo, após o uso de antibióticos ocorre uma redução da diversidade bacteriana, o que pode favorecer o crescimento destes patógenos, ocupando nichos ecológicos que estavam previamente indisponíveis (Navarrete et al., 2008). Além disso, alguns antibióticos, como a oxitetraciclina e o florfenicol também podem provocar imunossupressão (Romero et al., 2012).

A microbiota intestinal pode influenciar decisivamente o desenvolvimento celular intestinal. Células secretórias, caliciformes e enteroendócrinas, são menos abundantes em peixe-zebra (*Danio rerio*) criados livres de microorganismos, os chamados animais *germ-free* (Bates et al., 2006). De acordo com estes autores a habilidade da microbiota para regular funções digestivas ocorre por diferenças transcricionais de genes envolvidos no metabolismo de nutrientes para os peixes *germ-free*. Neste trabalho, na ausência de microbiota o epitélio intestinal apresentou ausência de atividade da enzima fosfatase alcalina nas bordas em escova e modos imaturos de expressão de glicanos.

Dessa forma, o melhor aproveitamento da dieta, promovendo a saúde animal e a redução da excreção de resíduos, passa necessariamente pelo ajuste de fatores que vão além do valor nutritivo básico de cada ingrediente adicionado à dieta. A manipulação da microbiota intestinal pode apresentar importantes efeitos imunoregulatórios, pela indução da tolerância da mucosa intestinal, assim como melhorar a morfologia intestinal, estimular atividade enzimática e produção de vitaminas, melhorando a conversão alimentar e taxa de crescimento de peixes (Qi et al. 2009). Existe um equilíbrio a ser mantido entre a comunidade de organismos existentes no ambiente aquático, no trato digestivo e sua interação com a superfície mucosa intestinal (Rombout et al., 2011).

Aubin et al. (2005) observaram que a adição da bactéria *Pediococcus acidilactici* à dieta de truta arco-íris (*Onchorynchus mykiss*) reduziu a incidência da síndrome da compressão da coluna vertebral, possivelmente pela competição com patógenos intestinais ou pela estimulação de condições intestinais favoráveis, permitindo a mineralização óssea, mediante a melhora da absorção de minerais.

Os probióticos quando adicionados às dietas podem, além de melhorar a saúde, colaborar com a nutrição do organismo hospedeiro (Apún-Molina et al., 2009). A modulação da microflora intestinal e modificação de sua morfologia, estimulando o crescimento das microvilosidades intestinais, são possíveis vias de ação para que ocorra um aumento da eficiência alimentar. Contudo, as técnicas de administração destes microorganismos são de difícil aplicação em escala industrial, dada a dificuldade de mantê-los viáveis para a

colonização intestinal, incorrendo assim em processos complexos de pulverização, liofilização e até mesmo, com algum grau de sucesso, a adição de esporos e células mortas (Merrifield et al., 2010).

O uso de prebióticos, que, por definição, são carboidratos não digestíveis e fermentáveis por organismos de interesse nutricional, é uma ferramenta nutricional promissora de manipulação da microbiota intestinal (Dimitroglou et al., 2011). Atualmente três oligossacarídeos têm sido utilizados: inulina, fosfoligossacarídeos e mananoligossacarídeos. Este último é bastante estudado em dietas para peixes, constituído por complexos glicomananoproteicos derivados da parede celular de leveduras como *Saccharomyces cerevisiae* (Schwarz et al. 2011). Os estudos dessas substâncias para peixes são insipientes e ainda assim precisam ser extraídas e isoladas, implicando em um custo adicional ao beneficiamento da ração (Kiron, 2012).

Neste contexto destacam-se os alimentos funcionais, ingredientes cuja finalidade não é necessariamente suprir uma eventual carência nutricional, mas por conter moléculas biologicamente ativas, podem oferecer benefícios a saúde. Moraes e Colla (2002) citam que esta categoria de alimento deve ter comprovada propriedade funcional, além de seu valor nutritivo básico, e ser apresentado como um alimento comum e natural, podendo ainda ter seus princípios extraídos e adicionados isoladamente.

A utilização de ervas e temperos tem recebido uma atenção crescente, assumindo uma posição cada vez mais expressiva no mercado (Brenes e Roura, 2010). Estas plantas

apresentam uma elevada concentração de compostos aos quais são atribuídas suas propriedades (Burt, 2004; Windisch et al., 2007). Podem afetar os processos digestivos, havendo interações sinérgicas entre eles e a microbiota intestinal benéfica, podendo favorecer assim o desempenho e conversão alimentar dos animais (Zheng et al., 2009; Ahmadifar et al., 2011). São capazes ainda de reduzir a produção de anions de oxigênio, se ligar a radicais livres e estimular respostas do sistema imune inato, tais como atividade de lisozima, de proteínas do sistema complemento e atividade fagocitária (Harikrishnan et al., 2011).

Os princípios ativos presentes nestas plantas são também conhecidos pelo termo fitoquímico, que se refere a compostos orgânicos, metabólitos secundários das plantas, geralmente com capacidade de afetar a saúde, mas que não são estabelecidos como nutriente essencial. Podem ser classificados como: óleos essenciais, cuja extração se dá através de vapor, alcalóides, ácidos, esteróides, taninos e saponinas, de acordo com os respectivos métodos de extração (Hashemi e Davoodi, 2011).

Contudo, é importante se considerar a possibilidade de utilização das folhas secas ou *in natura*, por representar uma vantagem em termos de custos de produção. Quando tilápias nilóticas foram desafiadas por *Streptococcus iniae*, os tratamentos que receberam tanto as folhas secas de alecrim (*Rosmarinus officinalis*), como seu extrato etílico ou oxitetraciclina foram igualmente efetivos em reduzir de maneira significativa a mortalidade dos animais em relação ao grupo controle, sem utilização de aditivos (Abutbul et al., 2004).

Pachanawan et al. (2008), testando a adição de folhas secas moídas ou do extrato alcoólico de folhas de goiabeira (*Psidium guajava*) à ração comercial de tilápia nilótica, observaram que ambas as formas de administração foram eficientes em reduzir a mortalidade dos animais quando desafiados por *A. hydrophila*. Verificou-se ainda que a ausência de diferença entre os grupos tratados com oxitetraciclina revela o potencial desta planta em substituição a tratamentos tradicionalmente utilizados.

São diversas as plantas que apresentam funções antioxidantes e antimicrobianas (Teixeira, 2013). Algumas observações demonstraram que podem ser capazes de melhorar a digestibilidade da dieta, por estimular a produção de enzimas digestivas e muco, possivelmente auxiliando nas defesas intestinais contra adesão de patógenos e estímulo do crescimento do epitélio intestinal, aumentando assim sua superfície de contato (Fukayama, 2004; Rawling et al., 2009; Zheng et al., 2009; Yan et al., 2010; Mountzouris et al., 2011; Giannenas et al., 2012).

Navarrete et al. (2012) avaliando a inclusão do óleo essencial de tomilho, que possui composição semelhante a do orégano, em dieta de truta arco-íris, durante cinco semanas, não apresentou interferência sobre o ganho de peso dos animais e nem sobre a diversidade da comunidade bacteriana intestinal. Contudo ao avaliar seu efeito *in vitro*, observou-se maior efetividade em inibir o crescimento de bactérias patogênicas (*Vibrio anguillarum*, *V. ordalii*, *V. parahaemolyticus* e *Flavobacterium psychrophium*) quando comparado às bactérias benéficas presentes em animais saudáveis, demonstrando um potencial para modulação da

comunidade bacteriana intestinal. A concentração inibitória mínima do óleo essencial para o crescimento de patógenos foi maior que 80 mg L^{-1} , enquanto que para a microbiota intestinal benéfica maior que 640 mg L^{-1} . O autor sugere que a diferença existente entre a ação *in vitro* e *in vivo* pode ser atribuível a possíveis interações com a dieta.

A perda fecal de nutrientes é o principal fator que afeta o aproveitamento da dieta pelo animal. De acordo com Bureau et al. (2002), existem fatores extrínsecos à dieta que influenciam sua digestibilidade, fazendo-se, assim, necessário o conhecimento da forma como um aditivo alimentar pode interferir sobre a digestibilidade dos nutrientes presentes na dieta. Para peixes, são poucos os trabalhos que avaliaram a adição destas plantas ou seus extratos sobre a digestibilidade. Entretanto, para algumas espécies terrestres de interesse comercial, existe uma maior quantidade de trabalhos que testaram os efeitos de sua adição sobre o coeficiente de digestibilidade dos nutrientes da dieta.

A adição de extratos vegetais, como os de orégano e canela, para leitões pode reduzir a digestibilidade do amido, da matéria orgânica e reduzir a altura das vilosidades intestinais, apesar do aumento da relação entre as populações de *Lactobacilli*: *Enterobacteria* (Manzanilla et al., 2009). Entretanto, Yan et al. (2010) observaram que adição de uma mistura comercial composta de orégano, alecrim e tomilho (AROMEX® -ME, Delacon Co. Ltd, Steyregg, Austria) foi capaz de melhorar a digestibilidade da matéria seca, do nitrogênio e da energia de leitões, efeito semelhante também ao observado por Wang et al. (2008), avaliando a inclusão de aditivos fitogênicos para porcas em reprodução. Estes autores

atribuem a melhora do desempenho e da conversão alimentar ao efeito observado na digestibilidade da dieta.

A adição de óleos essenciais de orégano, anis e citrus à dieta para frangos de corte é capaz de melhorar a digestibilidade da matéria orgânica e energia, refletindo em uma melhora no desempenho de crescimento e eficiência de aproveitamento da dieta, de forma similar ao antibiótico avilamicina (Mountzouris et al., 2011).

Orégano e tomilho administrados na forma de folhas secas também apresentaram resultados promissores para a alimentação de frangos, com resultados positivos de desempenho até 20 g/kg, sendo o orégano mais eficiente que o tomilho quanto ao estímulo da conversão alimentar e digestibilidade da energia (Abdel-Wareth et al., 2012).

2.1 Orégano como aditivo na alimentação animal

As plantas da família Labiatae têm recebido atenção crescente, devido a suas importantes propriedades nutricionais (Dugenci et al., 2003; Windisch et al., 2007; Brenes e Roura, 2010; Hashemi e Davoodi, 2011), podendo contribuir para a proteção contra o estresse oxidativo, tal como os antioxidantes tradicionalmente adicionados à dieta (ex.: α -tocoferol e hidroxituoleno butilado) e favorecendo o desempenho produtivo (Windisch et al., 2007).

A atividade antioxidante destes compostos fenólicos é principalmente devida às propriedades redutoras de sua estrutura química, que permite a neutralização de radicais livres, quelando metais de transição e decompondo peróxidos (Yanishlieva et al., 1999). Carvacrol e timol são os dois compostos fenólicos predominantes nas folhas de orégano, constituindo 78 a 82% do óleo essencial de orégano, e são os principais responsáveis por suas propriedades, embora exista uma ampla variedade de compostos presentes em menores concentrações, tais como γ -terpieno e ρ -cimeno, dois monoterpênicos, que constituem cerca de 5 a 7% do óleo total, respectivamente (Brenes e Roura, 2010). A Figura 1 ilustra os principais compostos fenólicos presentes no orégano.

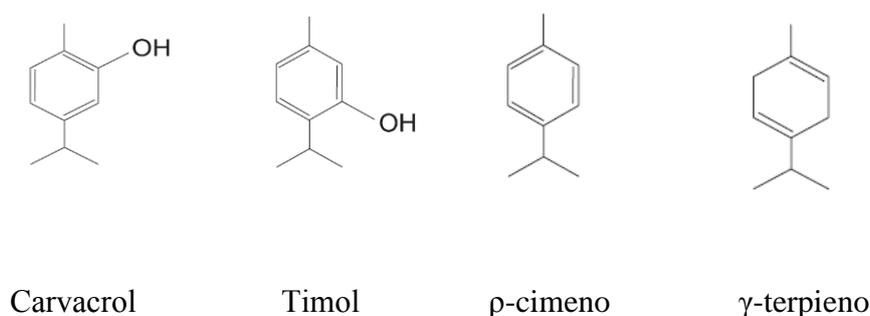


Figura 1. Estrutura química dos compostos fenólicos presentes no orégano (Burt, 2004).

Uma importante característica destes compostos é sua hidrofobicidade, permitindo que se dissolvam na membrana celular e mitocondrial, se alinhando entre a bicamada lipídica, o que provavelmente provoca uma expansão e desestabilização da membrana celular

microbiana, aumentando sua fluidez e permeabilidade passiva ao ATP (Ultee et al., 1999). A importância de seus grupos hidroxil tem sido confirmada independente de sua posição no anel aromático. A ação do timol contra *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa* parece ser comparável com a do carvacrol. O exato mecanismo pelo qual estes compostos exercem seus efeitos antimicrobianos ainda não está completamente elucidado, considerando que há diversos princípios ativos presentes em uma planta e aqueles encontrados como traços também desempenham papel crítico na atividade antibacteriana (Burt, 2004)

Em ensaios *in vitro*, o carvacrol é capaz de inibir o crescimento de *Edwardsiella tarda* em concentrações a partir de 20 ppm. Entretanto, com adição de cimeno, precursor biológico do carvacrol, foi observada uma redução da concentração inibitória mínima para 5 ppm de carvacrol e 2,5 ppm de cimeno. Resultados similares também foram verificados no ensaios *in vivo*, ao se avaliar a capacidade protetora da inclusão de carvacrol, cimeno e sua combinação. A mortalidade de tilápias foi avaliada com duas semanas após injeção intraperitoneal de *E. tarda*. Somente o carvacrol (200 ppm) foi eficiente em reduzir a mortalidade, entretanto, ao se combinar com 200 ppm de cimeno, observou-se um efeito sinérgico entre as duas substâncias (Rattanachaikunsopon e Phumkhachorn, 2010).

A oxidação lipídica é também um grande problema para o processamento de carne, cozimento e estocagem, efeito este que afeta a qualidade dos produtos por perda de sua cor característica, odor, sabor e tempo de prateleira. Botsoglou et al. (2002) verificaram o efeito

antioxidante da adição de óleo essencial de orégano (50 e 100 mg kg⁻¹ da dieta) para frangos de corte, sobre as características da carcaça.

Ao se testar o efeito da adição de carvacrol e timol isoladamente, uma mistura de timol e carvacrol, ou de um produto comercial contendo o óleo essencial de orégano (Orego-Stim[®]) a rações de bagre do canal (*Ictalurus punctatus*), observou-se uma elevação da atividade da enzima superóxido dismutase e catalase plasmáticas, principalmente para os animais que receberam o extrato comercial de orégano. Quando desafiados por *Aeromonas hydrophila*, verificou-se que os animais de todos os tratamentos apresentaram menor mortalidade que o grupo controle (sem adição de qualquer tipo de extrato), no entanto a melhor sobrevivência tenha sido observada no tratamento que recebeu extrato comercial de orégano (Zheng et al., 2009). Os autores ponderam que todos os tipos de extrato foram capazes de melhorar o ganho de peso, a conversão alimentar e eficiência de deposição proteica, mas o extrato comercial de orégano, cuja composição apresenta uma maior quantidade de princípios ativos, se revelou mais promissor, possivelmente pela presença de um efeito sinérgico existente entre seus constituintes.

A adição de carvacrol ou timol à dieta de truta arco-íris cultivada em condições comerciais melhorou a eficiência alimentar dos animais, observando-se também redução da formação de malondialdeído e aumento da atividade de glutathione s-transferase e glutathione reductase, revelando melhora da estabilidade oxidativa dos filés após cinco dias de refrigeração, embora não tenha afetado o ganho de peso dos animais (Giannenas et al., 2012).

O autor cita que a capacidade antioxidante do orégano é relacionada com sua concentração de compostos fenólicos. Seu efeito benéfico sobre o crescimento dos animais foi atribuído também pela forte inibição observada sobre crescimento de anaeróbicos totais no intestino dos peixes.

Em frangos de corte, além da modificação do perfil da população bacteriana intestinal, inclusão de orégano pode ser também capaz de estimular o crescimento das vilosidades intestinais (Fukayama, 2004; Abdel-Wareth et al., 2012). Bampidis et al. (2005) relataram que a inclusão de orégano (0 a 3,75g/kg) à dieta de fêmeas de perus reduziu linearmente o consumo, mas melhorou a conversão alimentar, sem, no entanto, prejudicar o ganho de peso dos animais. O autor sugere que o orégano pode afetar o sabor da ração provocando rejeição pelos animais.

Para a inclusão de aditivos alimentares existe uma série de pré-requisitos a serem atendidos previamente a seu uso. De forma geral, por serem considerados produtos que podem ser adicionados de forma permanente à dieta, sem a necessidade de controle veterinário específico, precisam ser comprovadamente inofensivos à saúde do animal, do produtor, do consumidor e inofensivo ao meio ambiente (BRASIL, 2004). Posteriormente, definidas sua identidade e rastreabilidade inerentes a produtos licenciados, é necessário também que apresentem uma eficácia comprovada frente a seus benefícios propostos.

A digestibilidade da proteína, energia e extrato etéreo, assim como o crescimento das vilosidades intestinais, são variáveis que se relacionam diretamente com a eficiência de

aproveitamento da dieta, podendo explicar uma possível melhora na conversão alimentar e retenção de nutrientes. Tendo em vista os benefícios que a inclusão de orégano pode trazer para o desempenho animal, é fundamental a avaliação de variáveis de desempenho em conjunto com aqueles que refletem a forma como a inclusão de folhas secas podem melhorar os principais processos digestivos ou metabólicos.

3 Material e métodos

O experimento foi conduzido no Laboratório de Aquicultura (LAQUA), na Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) por um período de 40 dias.

Foram utilizados 280 juvenis machos de tilápia nilótica (*Oreochromis niloticus*), com peso médio inicial de $98,75 \pm 8,83$ g, alojados em 28 tanques com capacidade de 100L cada. Os animais foram aclimatados às condições experimentais durante 15 dias, recebendo somente a dieta basal. Após esse período os animais começaram a receber as dietas experimentais, que se constituíram de sete níveis crescentes (0; 0,025; 0,050; 0,075; 0,100; 0,125 e 0,150%) de folhas secas de orégano incluídas na dieta basal, as dietas utilizadas nestes experimento foram extrusadas seguindo a composição presente na tabela 1. O delineamento

experimental utilizado foi inteiramente casualizado (DIC), com sete tratamentos (níveis de inclusão de extrato de orégano na dieta) e quatro repetições.

Tabela 1. Formulação e composição percental das dietas experimentais com concentrações crescentes de folhas secas de orégano.

Ingredientes (%)	Níveis de orégano (%)						
	0,00	0,025	0,050	0,075	0,100	0,125	0,150
Soja Farelo	38,31	38,31	38,31	38,31	38,31	38,31	38,31
Arroz Quirera	20,00	20,00	20,00	20,00	20,00	20,00	20,00
Farinha de Salmão	15,00	15,00	15,00	15,00	15,00	15,00	15,00
Trigo Farelo	11,40	11,43	11,43	11,43	11,43	11,43	11,43
Oleo de Soja	5,58	5,58	5,58	5,58	5,58	5,58	5,58
Gluten de trigo	5,01	5,01	5,01	5,01	5,01	5,01	5,01
Fosfato Bicálcico	2,85	2,85	2,85	2,85	2,85	2,85	2,85
DL-Metionina	0,64	0,64	0,64	0,64	0,64	0,64	0,64
Sal Comum	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Suplemento vitamínico e mineral	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
BHT	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
Inerte	0,150	0,125	0,100	0,075	0,050	0,025	0,000
Orégano	0,000	0,025	0,050	0,075	0,100	0,125	0,150
Óxido de cromo	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050
	Composição percentual ¹ (%)						
Proteína Bruta	32,66	33,16	33,04	33,74	34,09	33,21	32,16
Energia Bruta ²	4301,54	4348,54	4287,48	4339,03	4283,22	4264,55	4294,95
Fósforo total ³	1,18	1,18	1,18	1,18	1,18	1,18	1,18
Cálcio ³	1,15	1,15	1,15	1,15	1,15	1,15	1,15

¹ Valores expressos com base na matéria seca

² Valores expressos em Kcal kg⁻¹

³ Analisado na dieta controle

Os animais foram alimentados três vezes ao dia (8:00, 12:00 e 16:00 horas) até a saciedade aparente. Ao final de cada alimentação, quando os animais, já não manifestavam comportamento alimentar, as sobras do oferecido eram recolhidas, e armazenadas em freezer a -20 °C, até que fossem secas em estufa de ventilação forçada durante 96h para que fosse

pesadas. Possibilitando desta forma a avaliação do consumo dos animais, a diferença entre o que foi oferecido e as sobras.

As variáveis de qualidade de água foram monitoradas semanalmente nos tanques. A temperatura da água e a concentração de oxigênio e pH foram mantidos em $27,94 \pm 0,21$ °C, $4,53 \pm 0,67$ mg L⁻¹ e $7,39 \pm 0,13$ respectivamente, avaliados por meio do uso de uma sonda multiparâmetro YSI 6520 V2[®]. A amônia e nitrato foram mensuradas utilizando-se Kits comerciais colorimétricos Alfakit[®], mantidas abaixo de 1,0 mg l⁻¹. As unidades experimentais foram sifonados diariamente para a retirada de restos de ração e excretas.

Os coeficientes de digestibilidade da proteína, energia e extrato etéreo foram determinados pelo método indireto com óxido de crômico como indicador inerte, calculados de acordo com a fórmula:

$$CDa_{(n)} = 100 - \left[100 \left(\frac{(\%Cr_2O_{3r})}{\%Cr_2O_{3f}} \right) \times \left(\frac{\%N_f}{\%N_r} \right) \right]$$

Em que: CDa(n) = Coeficiente de digestibilidade aparente; Cr_2O_{3r} = percentual de óxido de cromo na ração; Cr_2O_{3f} = percentual de óxido de cromo nas fezes; N_f = percentual do nutriente nas fezes; N_r = percentual do nutriente na ração.

Os tanques em que os animais ficaram alojados eram equipados com dispositivos de coleta de fezes do tipo Guelph modificado. Foram realizadas coletas de hora em hora, de 8:00 às 19:00 horas, com intervalo para o horário de alimentação dos animais, após o qual era feita a limpeza do tanque para reiniciar as coletas. A coleta se iniciou nas últimas duas semanas de

experimento e se prosseguiu até que se obtivesse uma quantidade de fezes suficiente para que fossem realizadas suas respectivas análises bromatológicas, as quais foram armazenadas congeladas a -20 °C em pool para cada unidade experimental até se dar início às análises bromatológicas.

As fezes, assim como as sobras de ração, foram secas em estufa de ventilação forçada a 55°C por 96 horas e moídas em moinho com peneira de 1mm. As análises bromatológicas foram realizadas no Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia, na Escola de Veterinária da UFMG. Foram realizadas análises de matéria seca, cinzas, extrato etéreo, proteína bruta e energia bruta das dietas, fezes e dos filés, seguindo as recomendações propostas pela A.O.A.C. (1998). As análises de óxido crômico foram feitas por espectrofotometria de absorção atômica, conforme descrito por Teixeira (2010).

Ao final do período experimental, foi coletado sangue de quatro animais de cada unidade experimental, após terem sido mantidos num período de jejum prévio de 24 horas. A coleta de amostras de sangue foi realizada sem sedação e por meio de punção cardíaca com seringas descartáveis de 3 ml e agulhas descartáveis 25x8mm. Uma gota de sangue foi utilizada para avaliação de glicose, utilizando-se o glicosímetro digital Accu Check (Roche®). Em seguida, o sangue coletado foi acondicionado em microtubos contendo 10% de solução de ácido etilenodiaminotetraacético (EDTA) a 10 %, como anticoagulante, para análise de hematócrito e proteína total plasmática, utilizando-se para tanto microcentrífuga (Micro SPIN 1000) e refratômetro respectivamente.

Ao final das coletas de sangue os animais foram insensibilizados em gelo fundente, abatidos por secção da medula espinhal e eviscerados, com separação do trato intestinal e dos filés para avaliação de seus respectivos rendimentos. Realizou-se a filetagem unilateral com costela, com o peso do filé sendo multiplicado por dois, para se estimar a produção total de filé por animal.

Para a análise de morfometria da mucosa intestinal foram coletados fragmentos de aproximadamente 5 cm de comprimento da porção inicial do intestino, de quatro animais de cada tratamento. Os fragmentos foram abertos longitudinalmente, lavados com solução salina, fixados em solução de formol não tamponado, até serem cortados dois fragmentos de aproximadamente 0,5 cm e transferidas para álcool 70%, onde ficaram armazenados até a confecção das lâminas. Em seguida, foram desidratados com série ascendente de álcool (70%, 80%, 90%, 2 h cada, e no álcool 90% por aproximadamente 12 h para posterior diafanização (mantidos durante 15 minutos sob imersão em xilol). As amostras foram, em seguida, submetidas a banho por 25 minutos em parafina fundida em estufa a 56°C. Os tecidos impregnados com parafina foram emblocados em temperatura ambiente, até o seu endurecimento, para obtenção dos cortes histológicos. Foram realizados cortes de 5 µm de espessura, utilizando micrótomo (Microm HM 315). As fitas obtidas na microtomia foram transferidas para banho maria mantido a 40°C para que se fixassem nas lâminas. Após o tempo de secagem (24h), as lâminas foram colocadas por 20 minutos em estufa a 200 °C, para derreter a parafina.

Na etapa de coloração, as lâminas foram rehidratadas, submetidas a dois banhos em xilol de 10 minutos cada e soluções decrescentes de álcool (100, 90, 80 e 70%), por 10 minutos no álcool absoluto e 5 minutos nos subsequentes. Em seguida, foram lavadas para água corrente por 15 minutos, para que então pudessem ser corados pelo método de hematoxilina-eosina: solução aquosa de hematoxilina por 20 segundos e colocados em água corrente por 15 minutos. Posteriormente, coradas em eosina por 30 segundos e lavada com água potável para tirar o excesso de eosina, para finalmente, realizar desidratação e diafanização. As lâminas foram montadas com uma gota de bálsamo do Canadá para que fossem acrescentadas às lamínulas.

As análises morfométricas foram realizadas utilizando microscópio óptico binocular (Laborana, modelo: L-2000) com aumento de 100 vezes e lente ocular micrométrica. Foram selecionadas e medidas 30 vilosidades por animal, cujas alturas (comprimentos em linha reta, μm) foram tomadas a partir da base superior até seu ápice.

Foram separadas quatro amostras de filé de cada animal por tratamento, as quais foram identificadas, acondicionadas em embalagens plásticas, apropriadas para congelamento, e embrulhadas em papel alumínio para serem armazenadas a uma temperatura de -20°C . Posteriormente foram analisadas quanto aos teores de matéria seca, energia bruta, proteína bruta, cinzas e extrato etéreo, de acordo com as metodologias propostas pela A.O.A.C. (1998).

O consumo diário dos animais foi calculado de acordo com a equação:

$$C = \frac{O - S}{t}$$

C = Consumo (g dia⁻¹)

O = Quantidade de ração oferecida (g)

S = Quantidade sobras recolhidas (g)

T = Tempo de experimento (dias)

O ganho de peso percentual dos animais foi calculado de acordo com a equação:

$$GP\% = \left(\frac{PF - PI}{PI} \right) \times 100$$

GP% = ganho de peso percentual (em gramas)

PF = Peso final (em gramas)

PI = Peso inicial (em gramas)

PE = Período experimental (número de dias)

A taxa de crescimento específico (TCE) foi calculada de acordo com a equação:

$$TCE = \left(\frac{(\ln pf - \ln pi)}{n} \right) \times 100$$

pf = Peso final

pi = Peso inicial

n = Número de dias

A conversão alimentar (CA) foi calculada de acordo com a equação:

$$CA = \frac{RC}{GP}$$

CA = Conversão alimentar

RC = Ração consumida (em quilogramas)

GP = Ganho de peso (em quilogramas)

O rendimento de filé foi calculado de acordo com a equação:

$$RF = \frac{PFi}{PV}$$

PFi = Peso do filé

PV = Peso vivo

O índice hepatossomático dos animais foi calculado por meio da aplicação da equação:

$$IHS = \frac{PF}{PV} \times 100$$

IHS = Índice hepatossomático (percentual)

PF = Peso do fígado (g)

PV = Peso vivo (g)

As análises estatísticas foram realizadas com o auxílio do programa SAEG – Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas (UFV, 1997). Os resultados foram submetidos a estudos de regressão, considerando seu significado biológico, e escolhendo-se as equações com $p < 0,05$ de menor grau e maior coeficiente de determinação. Os coeficientes de digestibilidade

da proteína bruta e do extrato etéreo foram submetidos à transformação angular ($y = \arcsen\sqrt{x/100}$), bem como os valores referentes à concentração de energia bruta no filé e de glicose no sangue foram submetidos à transformação logarítmica ($y = \log_{10} x$), para que na análise do resíduo fossem respeitados os requisitos de normalidade e homogeneidade, avaliados pelos testes de Lilliefors, Cochran e Bartlett, respectivamente.

4 Resultados e Discussão

Ao longo do período experimental, os animais ganharam em média $165,61 \pm 20,64\%$ de peso em relação ao seu peso inicial, esta amplitude de ganho é considerada satisfatória para que se revelem os possíveis efeitos dos tratamentos avaliados sobre o desempenho dos animais (NRC, 2012). Entretanto não foram observados efeitos significativos dos níveis crescentes de orégano na dieta sobre o crescimento, consumo ou conversão alimentar dos animais (Tabela 2).

Tabela 2 – Consumo de ração (g dia⁻¹), peso inicial e final (Pi e Pf), ganho de peso diário (GPD, g dia⁻¹) e percentual (GP%), taxa de crescimento específico (TCE, % dia⁻¹), conversão alimentar (CA) de juvenis de tilápia alimentados com dietas contendo níveis crescentes de orégano.

	Níveis de orégano na ração (%)							C.V ¹	Valor de P	
	0,00	0,025	0,050	0,075	0,100	0,125	0,150		L ²	Q ²
Consumo	5,04	4,99	5,52	5,24	5,37	5,46	5,33	7,59	0,11	0,18
Pi	97,5	98,0	101,3	96,65	98,25	100,1	99,5	9,99	0,76	0,96
Pf	248,42	253,72	274,17	263,5	266,97	274,1	252,45	11,21	0,54	0,33
GPD	3,77	3,89	4,32	4,17	4,21	4,35	3,82	14,34	0,52	0,20
GP%	157,17	159,63	171,38	172,24	171,66	174,24	152,96	12,96	0,76	0,20
TCE	2,34	2,38	2,48	2,50	2,49	2,52	2,31	8,64	0,70	0,19
CA	1,36	1,28	1,28	1,26	1,28	1,25	1,42	10,40	0,71	0,15

¹ Coeficiente de variação

² Valor de P para o modelo linear (L) e quadrático (Q)

Rattanachaikunsopon e Phumkhachorn (2010), avaliando a suplementação de carvacrol e cimeno, ambos extraídos do orégano, não observaram diferenças no ganho de peso de tilápia nilótica. Volpatti et al. (2012) ao adicionar 0,025 e 0,05% de carvacrol à dieta de Robalo europeu (*Dicentrarchus labrax*), também não observaram diferenças no crescimento dos animais. Contudo, para bagre do canal (*Ictalrus punctatus*), a adição de 0,05% de timol, carvacrol ou do óleo essencial comercial de orégano melhorou a taxa de crescimento dos animais, bem como sua eficiência alimentar (Zheng et al., 2009). Assim como para truta arco-íris, que a adição tanto do extrato (Ahmadifar et al., 2011 e Giannenas et al., 2012) como de folhas secas (1%) melhorou a eficiência alimentar dos animais (Erol-Florian et al., 2011).

Os ingredientes utilizados para a confecção das dietas podem ser considerados de elevada qualidade e com base no elevado desempenho dos animais, provavelmente suas exigências nutricionais foram satisfeitas, e assim, nesta condição, um acréscimo no aporte de nutrientes

não implica necessariamente em melhora no desempenho (NRC, 2012). Neste sentido a inclusão de orégano não tem como objetivo fornecer nutrientes diretamente, mas sim, favorecer a digestibilidade e metabolismo daqueles nutrientes fornecidos por outros ingredientes majoritários na dieta.

As respostas dos animais frente à adição destas plantas na dieta são influenciadas principalmente pela complexa interação com a dieta em que se inserem, assim como pelo padrão sanitário do ambiente de criação (Brenes e Roura, 2010). Possivelmente no presente experimento as condições experimentais não ofereceram restrições para que os animais manifestassem seu potencial de desempenho (Sipaúba-Tavares, 1994).

No presente trabalho, a inclusão de orégano à dieta de juvenis de tilápia determinou um efeito quadrático positivo significativo sobre a digestibilidade aparente da matéria seca, matéria orgânica e energia bruta (Tabela 3), mas sem efeito significativo sobre a digestibilidade da proteína bruta e extrato etéreo. De maneira geral os coeficientes de digestibilidade aparente encontrados, principalmente do extrato etéreo e da energia bruta, foram elevados.

Tabela 3 - Coeficientes de digestibilidade (%) da matéria seca (CMS), matéria orgânica (CMO), extrato etéreo (CEE), proteína bruta (CPB), energia bruta (CEB) e altura das vilosidades intestinais (VIL, μm) para juvenis de tilápia alimentados com dietas contendo níveis crescentes de orégano.

	Níveis de orégano na ração							Valor de P		
	0,00	0,025	0,050	0,075	0,100	0,125	0,150	C.V ¹	L ²	Q ²
CMS ³	89,74	89,36	89,57	89,29	88,71	89,17	87,26	1,10	0,020	0,020
CMO ⁴	91,06	93,60	93,43	91,53	91,07	91,71	85,71	2,51	0,046	0,000
CEE	97,28	97,08	95,84	96,94	96,31	95,39	91,32	4,15	0,120	0,300
CPB	95,71	96,28	95,94	95,54	95,62	96,11	93,24	1,32	0,080	0,090
CEB ⁵	92,46	94,47	94,26	92,55	92,13	92,15	88,55	1,9	0,001	0,000
VIL	531,16	637,50	592,04	634,16	598,91	573,54	610,33	9,25	0,440	0,220

¹Coeficiente de variação

²Valor de P para o modelo linear (L) e quadrático (Q)

³ $y = 89,47 + 11,21x - 143,18x^2$ ($R^2 = 0,25$)

⁴ $y = 91,76 + 40,88x - 399,88x^2$ ($R^2 = 0,54$)

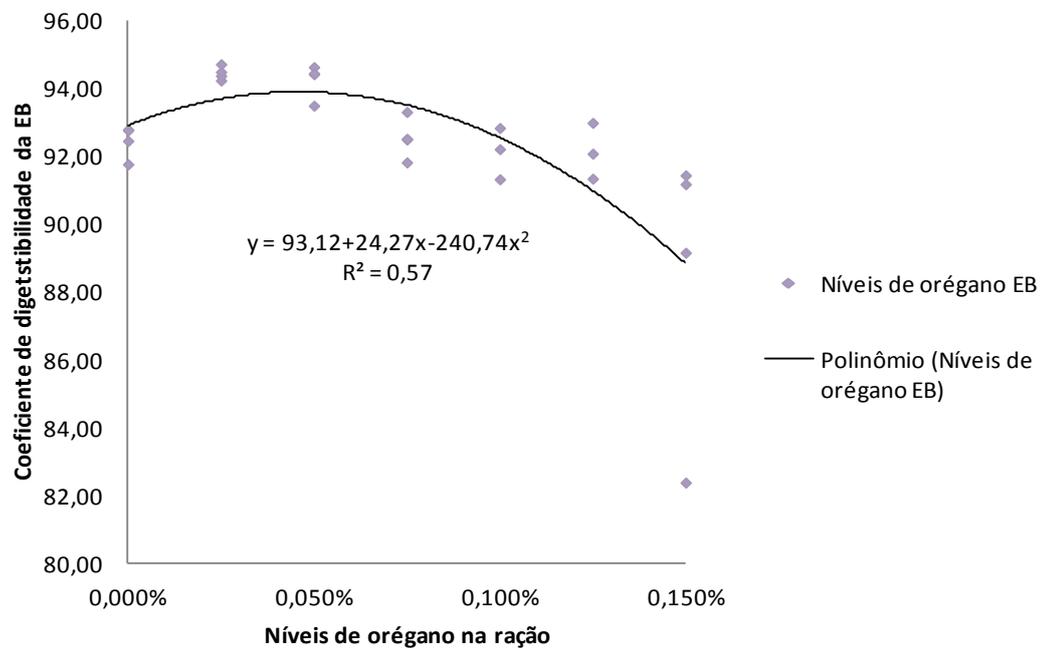
⁵ $y = 93,12 + 24,27x - 280,74x^2$ ($R^2 = 0,57$)

A ausência de efeito sobre a digestibilidade da proteína bruta e extrato etéreo, mas com a presença de estímulo sobre a digestibilidade da energia permite inferir que houve uma ação estimulante do orégano sobre a digestibilidade de carboidratos da dieta. Este efeito sobre a digestibilidade da energia também foi observado por Mountzouris et al. (2011), ao avaliarem a inclusão de uma mistura de óleo essencial de orégano, anis e citrus para frangos de corte, em que a digestibilidade da matéria orgânica e da energia metabolizável foram influenciadas positivamente, sem, no entanto, afetar a digestibilidade do extrato etéreo e da proteína bruta. Abdel-Wareth et al. (2012) ao adicionar orégano à dieta de frangos de corte, também verificaram uma relação linear positiva entre sua inclusão e a energia metabolizável da dieta, acompanhando de redução da contagem de *Lactobacillus spp.*

É possível, no presente experimento, que a inclusão de orégano na dieta tenha modificado o perfil da população microbiana intestinal, semelhante ao que foi observado por Giannenas et

al. (2012), ao incluírem timol ou carvacrol à dieta de truta arco-íris. A modulação da microbiota intestinal é uma importante ferramenta para a nutrição, que possui ampla variedade de mecanismos pelos quais podem interferir na saúde do organismo hospedeiro. A estimulação e auxílio da produção de enzimas digestivas, através da secreção de amilases exógenas (Merrifield et al., 2010; Pirarat et al., 2011) e seu papel na imunologia intestinal de peixes (Rombout et al., 2011) são formas pelas quais a microbiota intestinal pode exercer seus efeitos benéficos para peixes. Ocorre também a fermentação intestinal de carboidratos não fibrosos, que eventualmente escapam a digestão enzimática, sendo utilizados como substrato energético para o crescimento microbiano e havendo, em decorrência, produção de ácidos graxos voláteis de cadeia curta, os quais podem ser absorvidos e utilizados como substrato energético para o hospedeiro (Kihara e Sakata, 1997).

De acordo com os modelos encontrados, ao se avaliar os pontos de maior otimização da digestibilidade, observa-se que 0,039% de orégano na dieta pode promover uma melhora de 0,2% na digestibilidade matéria seca (89,68%), 0,051% de orégano na dieta pode melhorar em 1,044% a digestibilidade da matéria orgânica, e que a inclusão de 0,043% de orégano na dieta é o ponto de maior otimização da digestibilidade da energia (93,64%), representando uma melhora de 0,5% (Figura 2).



fontes de carboidratos para a dieta de tilápia do nilo, observaram que a produção intestinal de acetato e propionato se elevou com a adição de amido na dieta, mas também sem interferir na altura das vilosidades intestinais, que variou de 190 a 283 μm , trabalhando com animais de 300 g.

A inclusão de orégano não foi capaz influenciar os índices corporais avaliados (Tabela 4).

O rendimento de filé pode ser considerado elevado, apresentando composição semelhante à encontrada por Simões et al. (2007).

Tabela 4 - Peso vivo (PV, g), rendimento de filé (RF, %), índice hepatossomático (IHS, %), e teores de extrato etéreo (E.E%), proteína bruta (PB, %) e energia bruta (EB, kcal g^{-1}), expressos com base na matéria seca, de juvenis de tilápia recebendo níveis crescentes de orégano na ração.

	Níveis de orégano na ração							Valor de P		
	0,00	0,025	0,050	0,075	0,100	0,125	0,150	C.V ¹	L ²	Q ²
PV	261,22	253,05	261,96	248,48	251,08	225,07	242,77	10,46	0,07	0,20
RF	48,22	47,29	48,92	49,58	50,30	57,80	48,55	9,53	0,10	0,23
IHS	2,50	2,63	2,47	2,60	2,79	2,98	2,52	8,03	0,11	0,18
E.E	11,02	8,26	10,17	11,46	7,49	11,14	9,46	38,92	0,80	0,95
PB	82,06	86,07	85,15	85,84	83,7	84,21	84,91	4,44	0,71	0,63
EB	5903,79	5652,41	5855,07	6084,03	5881,85	6111,33	5647,05	5,47	0,92	0,48

¹Coefficiente de variação

²Valor de P para o modelo linear (L) e quadrático (Q)

O carvacrol e timol em pó, extraído de orégano, em dietas de truta arco-íris, na dose de 2 e 3 g kg^{-1} , melhorou o desempenho dos animais, modificando a composição corporal, favorecendo a deposição de gordura e proteína na carcaça (Ahmadifar et al., 2011). De forma semelhante, a adição de carvacrol, timol e principalmente o extrato comercial de orégano, para bagre do canal, pode induzir a uma maior deposição proteica, e um menor IHS (Zheng et al., 2009). Entretanto, Erol-Florian et al. (2011), ao adicionar 1% de folhas de orégano à dieta

de truta arco-irís, não observou influência significativa da adição de orégano sobre a composição do filé.

As variáveis sanguíneas avaliadas (Tabela 5) não revelaram alterações significativas em função da inclusão de orégano. Os níveis sanguíneos de glicose, hematócrito e de proteína total são compatíveis com outros valores encontrados na literatura (Merighe et al., 2004; Okamura et al., 2007; Goda, 2008).

Tabela 5 – Valores sanguíneos de glicose (GLIC, mg ml⁻¹), hematócrito (Hmt, %) e proteína total (g dL⁻¹) de juvenis de tilápia alimentados com níveis crescentes de orégano na ração

	Níveis de orégano na ração							Valor de P		
	0,000	0,025	0,050	0,075	0,100	0,125	0,150	C.V ¹	L ^{2*}	Q ²
GLIC	58,18	52,75	71,18	63,93	52,12	52,56	51,87	27,29	0,35	0,39
Hmt	15,37	19,62	17,43	14,43	20,37	19,68	18,06	16,57	0,21	0,46
PrT	5,21	4,03	5,07	4,90	4,74	4,64	5,04	16,16	0,86	0,82

¹Coefficiente de variação

²Valor de P para o modelo linear (L) e quadrático (Q)

Ahmadifar et al. (2011) também não observaram alterações no hematócrito de truta arco-irís alimentadas com dietas contendo carvacrol e timol. Com base nos resultados encontrados pode-se confirmar a ausência de toxicidade do orégano nos níveis avaliados. De acordo com Pankhurst (2011), a elevação da glicose plasmática é uma resposta secundária ao stress, consequência da elevação plasmática de catecolaminas e, numa fase posterior, de corticoides. Neste sentido, para as condições experimentais avaliadas, a inclusão de orégano não interferiu na condição de estresse a que os animais foram expostos, considerando a manipulação durante a pesagem e captura, a que os animais foram expostos.

5 Conclusões

O orégano pode melhorar a digestibilidade da matéria seca, matéria orgânica e energia em 0,21, 1,04 e 0,52% quando incluído nos níveis de 0,043, 0,051 ou 0,039% respectivamente, sem afetar, no entanto, a digestibilidade do extrato etéreo e proteína bruta.

A inclusão de orégano não foi capaz de afetar a conversão alimentar, o ganho de peso e consumo de ração. Bem como os níveis de glicose plasmática, proteína total e hematócrito permaneceram inalterados.

Nas concentrações avaliadas, a inclusão de folhas secas de orégano na ração não influenciou o desempenho e a saúde dos animais.

6 Considerações Finais

Futuros estudos são necessários para se esclarecer como possíveis funções benéficas do orégano interagem com a dieta e as condições de criação. Para que então sua utilização possa ser mais eficiente, definindo-se o tempo de uso e a inclusão adequada, considerando seu potencial em estimular a digestibilidade de nutrientes.

7 Referências Bibliográficas

ABDEL-WARETH, A. A. A.; KEHRAUS, S.; HIPPENSTIEL, F.; SÜDEKUM, K.H. Effects of thyme and oregano on growth performance of broilers from 4 to 42 days of age and on microbial counts in crop, small intestine and caecum of 42-day-old broilers – Short communication. *Anim. Feed Sci. Technol.*, v. 178, p. 198 -202, 2012.

ABUTBUL, S.; GOLAN-GOLDHIRSH, A.; BARAZANI, O.; ZILBERG, D. Use of *Rosmarinus officinalis* as a treatment against *Streptococcus iniae* in tilapia (*Oreochromis* sp.). *Aquaculture*, v. 238, p. 97 – 105, 2004.

AHMADIFAR, E.; FALAHATKAR, B.; AKRAMI, R. Effects of dietary thymol-carvacrol on growth performance, hematological parameters and tissue composition of juvenile rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *J. Appl. Ichthyol.*, v. 27, p. 1057 – 1060, 2011.

A.O.A.C - ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURE CHEMISTRY. Official methods of analysis of the Association of Official Agriculture Chemistry. Washington, 1998, 1102p.

APÚN-MOLINA, J. P.; SANTAMARÍA-MIRANDA, A.; LUNA-GONZÁLEZ, A.; MARTÍNEZ-DIAZ, S. F.; ROJAS-CONTRERAS, M. Effect of potencial probiotic bacteria

on growth and survival of tilapia *Oreochromis niloticus* L., cultured in the laboratory under high density and suboptimum temperature. *Aquacult. Res.*, v. 40, p. 887 – 894, 2009.

AUBIN, J.; GATESOUBE, F.; LABBÉ, L.; LEBRUN, LUC. Trial of probiotics to prevent the vertebral column compression syndrome in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss Walbaum*). *Aquacult. Res.*, v. 38, p. 758 – 767, 2005.

BAMPIDIS, V. A.; CHRISTODOULOU, V.; FLOROU-PANERI, P.; CHRISTAKI, E.; CHATZOPOULOU, P. S.; TSILIGIANNI, T.; SPAIS, A. B. Effect of dietary dried oregano leaves on growth performance, carcass characteristics and serum cholesterol of female early maturing turkeys. *Br. Poult. Sci.*, v. 46, p. 595–601, 2005.

BATES, J. M.; MITTGE, E.; KUHLMAN, J.; BADEN, K. N.; CHEESMAN, S. E.; GUILLEMIN, K. Distinct signals from the microbiota promote different aspects of zebrafish gut differentiation. *Develop. Biol.*, v. 297, 374-386, 2006.

BOTSOGLOU, N.A.; CHRISTAKI, E.; FLETOURIS, D.J.; FLOROU-PANERI, P.; SPAIS, A.B. The effect of dietary oregano essential oil on lipid oxidation in raw and cooked chicken during refrigerated storage. *Meat Sci.*, v. 62, p. 259 – 265, 2002.

BRASIL. INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 13. Ministério da Agricultura, pecuária e abastecimento. Brasília, 2004

BRASIL. BOLETIM ESTATÍSTICO DA PESCA E DA AQUICULTURA. Ministério da Pesca e Aquicultura. Brasília, 2012.

BRENES, A.; ROURA, E. Essential oils in poultry nutrition: main effects and modes of action. *Anim. Feed Sci. Technol.*, v. 158, p. 1–14, 2010.

BUREAU, D.P.; KAUSHIK, S.J.; CHO, C.Y. Bioenergetics. In: Halver, J.E.; Hardy, R.W. Fish Nutrition. Chicago: Elsevier, p. 1–59, 2002.

BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *Int. J. Food Microbiol.*, v. 94, p. 223– 253, 2004.

CABELLO, F. C. Heavy use of prophylactic antibiotics in aquaculture: a growing problem for human and animal health and for the environment – Minireview. *Environ. Microbiol.*, v. 8, p. 1137–1144, 2006.

DIMITROGLOU, A.; MERRIFIELD, D. L.; CARNEVALI, O.; PICCHIETTI, S.; AVELLA, M.; DANIELS, C.; GÜROY, D.; DAVIES, S.J. Microbial manipulations to improve fish health and production - A Mediterranean perspective. *Fish Shelf. Immunol.*, v. 30, p. 1-16, 2011.

DUGENCI, S. K.; ARDA, N.; CANDAN, A. Some medicinal plants as immunostimulant for fish. *J. Ethnopharmacol.*, v. 88, p. 99–106, 2003.

EROL-FLORIAN, G.; SARA, A.; MOLNAR, F.; BENTEA, M. The influence of some phytoadditives on growth performances and meat quality in rainbow trout (*Oncorhynchus Mykiss*). *Anim. Sci. Biotech.*, v.44, 2011.

FAO - FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS, The State of world fisheries and aquaculture. Roma, 2012.

FERREIRA, P. M. F.; BARBOSA, J. M.; SANTOS, E. L.; SOUZA, R. N.; SOUZA, S. R. Avaliação do consumo de oxigênio da tilápia do nilo submetidas a diferentes estressores. *Rev. Bras. Eng. Pesca*, v. 6, p. 56-62, 2011.

FLIK, G.; KLAREN, P. H. M.; BURG, E. H. V.; METZ, J. R.; HUISING, M. O. CRF and stress in fish. *Gen. Comp. Endocrinol.*, v. 146, p. 36-44, 2006.

FUKAYAMA, E.H. Extrato de orégano como aditivo em rações de frangos de corte. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras. 2004. 61p.

GIANNENAS, I.; TRIANTAFILLOU, E.; STAVRAKAKIS, S.; MARGARONI, M.; MAVRIDIS, S.; STEINER, T.; KARAGOUNI E. Assessment of dietary supplementation with carvacrol or thymol containing feed additives on performance, intestinal microbiota and antioxidant status of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, v. 350, p. 26–32, 2012.

GODA, A. M. A. S. Effect of dietary ginseng herb (Ginsana G115) supplementation on growth, feed utilization, and hematological indices of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.), fingerlings. *J. World Aquacult., Soc.*, v. 39, 2008.

GRISDALE-HELLAND, B.; HELLAND, S. J.; GATLIN III, D. M. The effects of dietary supplementation with mannanoligosaccharide, fructooligosaccharide or galactooligosaccharide on the growth and feed utilization of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture*, v. 283, p. 163–167, 2008.

HARIKRISHNAN, R.; BALASUNDARAM, C.; HEO, M. Impact of plant products on innate and adaptive immune system of cultured finfish and shellfish. *Aquaculture*, v. 317, p. 1–15, 2011.

HASHEMI, S. R.; DAVOODI, H. Herbal plants and their derivatives as growth and health promoters in animal nutrition – Review. *Vet. Res. Commun.*, v. 35, p. 169–180, 2011.

KIHARA, M.; SAKATA, T. Fermentation of dietary carbohydrates to short-chain fatty acids by gut microbes and its influence on intestinal morphology of a detritivorous teleost tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Comp. Biochem. Physiol.*, v. 118, p. 1201–1207, 1997.

KIRON, V. Fish immune system and its nutritional modulation for preventive health care. *Anim. Feed Sci. Technol.*, v. 173, p. 111–133, 2012.

MANZANILLA, E. G.; PÉREZ, J. F.; MARTÍN, M.; BLANDÓN, J. C.; BAUCCELLS, F.;

KAMEL C.; GASA, J. Dietary protein modifies effect of plant extracts in the intestinal ecosystem of the pig at weaning. *J. Anim. Sci.*, v. 87, p. 2029-2037, 2009.

MERIGHE, G. K. F.; PEREIRA-DA-SILVA, E. M.; NEGRÃO, J. A.; RIBEIRO, S. Efeito da cor do ambiente sobre o Estresse Social em Tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*). *R. Bras. Zootec.*, v.33, p. 828-837, 2004.

MERRIFIELD, D. L.; DIMITROGLOU, A.; FOEY, A.; DAVIES, S. J.; BAKER, R. T. M.;

BOGWALD, J.; CASTEX, M.; RINGO, E. The current status and future focus of probiotic and prebiotic applications for salmonids – Review. *Aquaculture*, v. 302, p. 1-18, 2010.

MOMMSEN, T. P.; VIJAYAN, M. M.; MOON, T. W. Cortisol in teleosts: dynamics, mechanisms of action, and metabolic regulation. *Rev. Fish Biol. Fisheries*, v. 9, p. 211-268, 1999.

MORAES, F. P.; COLLA, L. M. Alimentos funcionais e nutracêuticos: definições, legislação e benefícios à saúde. *Rev. Eletr. Farm.*, v. 3, p. 109-122, 2006.

MOUNTZOURIS, K. C.; PARASKEVAS, V.; TSIRTSIKOS, P.; PALAMIDI, I.; STEINER,

T.; SCHATZMAYR, G.; FEGEROS, K. Assessment of a phytogenic feed additive effect on

broiler growth performance, nutrient digestibility and caecal microflora composition. *Anim.*

Feed Sci Technol., v.168, p. 223 – 231, 2011.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. Nutrient requirement of fish. Washington,

D.C.: National Academy Press, 2012.

NAVARRETE, P.; MARDONES, P.; OPAZO, R.; ESPEJO, R.T.; ROMERO J.

Oxytetracycline treatment reduces bacterial diversity of intestinal microbiota of Atlantic

salmon (*Salmo salar*). *J. Aquat. Anim. Health.*, v. 20, p. 177-183, 2008.

NAVARRETE, P.; TOLEDO, I.; MARDONES, P.; OPAZO, R.; ESPEJO, R.T.; ROMERO J.

Effect of *Thymus vulgaris* essential oil on intestinal bacterial microbiota of rainbow trout,

Oncorhynchus mykiss (Walbaum) and bacterial isolates. *Aquacult. Res.*, v. 41, p. 667- 678,

2012.

OKAMURA, D.; ARAÚJO, F.G.; LOGATO, P.V.R.; MURGAS, L.D.S.; FREITAS, R.T.F.;

ARAÚJO, R.V. Efeito da vitamina C sobre o hematócrito e glicemia de alevinos de tilápia-

do-nilo (*Oreochromis niloticus*) em transporte simulado. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.59,

p.883-888, 2007.

PACHANAWAN, A.; PHUMKHACHORN, P.; RATTANACHAIKUNSOPON, P. Potential

of *Psidium guajava* supplemented fish diets in controlling *Aeromonas hydrophila* infection in

tilapia (*Oreochromis niloticus*). *J. Biosci. Bioeng.*, v. 106, p. 419 – 424, 2008.

PANKHURST, N.W. The endocrinology of stress in fish: An environmental perspective.

Gen. Comp. Endocrinol., v. 170, p. 265-275, 2011.

PIRARAT, N.; PINPIMAI, K.; ENDO, M.; KATAGIRI, T.; PONPORNPIKIT, A.;

CHANSUE, N.; MAITA, M. Modulation of intestinal morphology and immunity in Nile

tilapia (*Oreochromis niloticus*) by *Lactobacillus rhamnosus* GG. *Res. Vet. Sci.*, v. 91, p. 92 –

97, 2011.

QI, Z.; ZHANG, X.-H.; BOON, N.; BOSSIER, P. Probiotics in aquaculture of China —

Current state, problems and prospect. *Aquaculture*, v. 290, p. 15-21, 2009.

RATTANACHAIKUNSOPON, P.; PHUMKHACHORN, P. Assessment of synergistic

efficacy of carvacrol and cymene against *Edwardsiella tarda* *in vitro* and in Tilapia

(*Oreochromis niloticus*). *Afr. J. Microbiol. Res.*, v. 4, p. 420-425, 2010.

RAWLING, M. D.; MERRIFIELD, D. L.; DAVIES, S. J. Preliminary assessment of dietary

supplementation of Sangrovit on red tilapia (*Oreochromis niloticus*) growth performance and

health. *Aquaculture*, v. 294, p. 118 – 122, 2009.

ROMBOUT, J. H. W. M., ABELLI, L., PICCHIETTI, S., SCAPIGLIATI, G., KIRON, V.

Teleost intestinal immunology - Review. *Fish Shell-fish Immunol.*, v. 31, p. 616 – 626, 2011.

ROMERO, J.; FEIJÓ, C. G.; NAVARRETE, P. Antibiotics in Aquaculture– Use, Abuse and Alternatives. In: CARVALHO, E. D.; DAVID, G. S.; SILVA, R.J. Health and Environment in Aquaculture. Croatia: InTech, p. 159-199, 2012.

SANTOS, E.L. Aditivos naturais promotores de crescimento em dietas para Tilápia do Nilo. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife. 2010. 72p.

SCHWARZ, K. K.; FURUYA, W. M.; NATALI, M. R. M.; GAUDEZI, M.C.; LIMA, P. A. G. Mananoligossacarídeo em dietas para larvas de tilápia. *Rev. Bras. Zootec.*, v. 40, n. 12, p. 2634-2640, 2011.

SIPAÚBA-TAVARES, L.H. Limnologia aplicada à aqüicultura. Jaboticabal: FUNEP, 1994. 70p.

SIMÕES, M. R.; RIBEIRO, C. F. A.; RIBEIRO, S. C. A.; PARK, K. J.; MURR, F. E. X. Composição físico-química, microbiológica e rendimento do filé de tilápia tailandesa (*Oreochromis niloticus*). *Cienc. Tecnol. Aliment.*, v. 27, p. 608-613, 2007.

SMITH, P.; HINEY, M. P.; SAMUELSEN, O. B. Bacterial resistance to antimicrobial agents used in fish farming: A critical evaluation of methods and meaning. *An. Rev. Fish Dis.*, v. 4, p. 273 - 313, 1994.

TEIXEIRA, E. A.; SALIBA, E. O. S.; EULER, A. C. C.; FARIA, P. M. C.; CREPALDI, D. V.; RIBEIRO, L. P. Coeficientes de digestibilidade aparente de alimentos energéticos para juvenis de surubim. *R. Bras. Zootec.*, v.39, p.1180-1185, 2010.

TEIXEIRA, B.; MARQUES, A.; RAMOS, C.; NENG, N. R.; NOGUEIRA, J. M. F.; SARAIVA, J. A.; NUNES, M. L. Chemical composition and antibacterial and antioxidant properties of commercial essential oils. *Ind. Crops Prod.*, v. 43, p. 587 – 595, 2013.

TORT, L. Stress and immune modulation in fish. *Dev. Comp. Immunol.*, v. 35, p. 1366-1375, 2011.

TRICHET, V. V. Nutrition and immunity: an update. *Aquacult. Res.*, v. 41, p. 356-372, 2010.

ULTEE, A.; KETS, E. P. W.; SMID, E. J. Mechanisms of Action of Carvacrol on the Food-Borne Pathogen *Bacillus cereus*. *App. Environ. Microbiol.*, v. 65, p. 4606-4610, 1999.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA – UFV. Sistema para análises estatísticas e genéticas - SAEG. Versão 8.0. Viçosa, MG, 2000. 142p

VOLPATTI, D.; CHIARA, B.; FRANCESCA, T.; MARCO, G. Growth parameters, innate immune response and resistance to *Listonella (Vibrio) anguillarum* of *Dicentrarchus labrax* fed carvacrol supplemented diets. *Aquacult. Res.*, p. 1–14, 2012.

WANG, Q.; KIM, H. J.; CHO, J. H.; CHEN, Y. J.; YOO, J. S.; MIN, B. J.; WANG, Y.; KIM, I. H. Effects of phytogetic substances on growth performance, digestibility of nutrients,

faecal noxious gas content, blood and milk characteristics and reproduction in sows and litter performance. *J. Anim. Feed Sci.*, v. 17, p. 50-60, 2008.

WINDISCH, W.; SCHEDLE, K.; PLITZNER C.; KROISMAYR, A. Use of phytogetic products as feed additives for swine and poultry. *J. Anim. Sci.*, v. 86, p.140–148, 2008.

WORLD HEALTH ORGANIZATION – W.H.O. Tackling antibiotic resistance from a food safety perspective in Europe. Copenhagen, Dinarmarca, 2011. Disponível em WWW.EURO.WHO.INT. Acessado em 31/jul/2012.

YAN, L.; WANG, J. P.; KIM, H. J.; MENG, Q. W.; AO, X.; HONG, S. M.; KIM, I. H. Influence of essential oil supplementation and diets with different nutrient densities on growth performance, nutrient digestibility, blood characteristics, meat quality and fecal noxious gas content in grower–finisher pigs. *Livest. Sci.*, v. 128, p. 115 – 122, 2010.

YANISHLIEVA, N. V.; MARINOVA, E. M.; GORDON, M. H.; RANEVA, V. G. Antioxidant activity and mechanism of action of thymol and carvacrol in two lipid systems. *Food Chemist.*, v. 64, p. 59 – 66, 1999.

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

