



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO

PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS PESQUEIROS E
AQUICULTURA**

**EFEITO DO EXTRATO ETANÓLICO DE *Anacardium occidentale* SOBRE O
DESEMPENHO ZOOTÉCNICO DE ALEVINOS DE *Oreochromis niloticus***

ISLAINE LEMOS FELIX

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Recursos Pesqueiros e Aquicultura da Universidade Federal Rural de Pernambuco como exigência para obtenção do título de Mestre.

Prof.a Dra Suzianny Maria Bezerra
Cabral da Silva

Orientadora

Profa Dra Juliana Ferreira dos Santos

Co-orientadora

Prof. Dr. Alfredo Oliveira Gálvez

Co-orientador

Recife

Fevereiro 2023

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal Rural de Pernambuco
Sistema Integrado de Bibliotecas
Gerada automaticamente, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- F316e Felix, Islaine
Efeito do extrato etanólico de *Anacardium occidentale* sobre o desempenho zootécnico de alevinos de *Oreochromis niloticus* / Islaine Felix. - 2023.
29 f. : il.
- Orientadora: Suzianny Maria Bezerra Cabral da Silva.
Coorientadora: Juliana Ferreira dos Santos.
Inclui referências.
- Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Recursos Pesqueiros e Aquicultura, Recife, 2023.
1. Fitoterápico. 2. Piscicultura. 3. Tilápia. 4. Hematologia. 5. Morfologia intestinal. I. Silva, Suzianny Maria Bezerra Cabral da, orient. II. Santos, Juliana Ferreira dos, coorient. III. Título

CDD 639.3

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO

PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS PESQUEIROS E
AQUICULTURA**

**EFEITO DO EXTRATO ETANÓLICO DE *Anacardium occidentale* SOBRE O
DESEMPENHO ZOOTÉCNICO DE ALEVINOS DE *Oreochromis***

ISLAINE LEMOS FELIX

Dissertação julgada adequada para
obtenção do título de mestre em Recursos
Pesqueiros e Aquicultura. Defendida e
aprovada em 27/02/2023 pela seguinte
Banca Examinadora.

Profa. Dra. Suzianny Maria Bezerra Cabral da Silva
Orientadora

Departamento de Pesca e Aquicultura/Universidade Federal Rural de Pernambuco

Profa. Dra. Maria Raquel Moura Coimbra
Membro Interno

Departamento de Pesca e Aquicultura/Universidade Federal Rural de Pernambuco

Profa. Dra. Gelcirene de Albuquerque Costa
Membro Externo

Dedicatória

Dedico este trabalho a Deus, aos meus pais (Alberto Felix e Nilda Lemos), às minhas irmãs (Alessandra Lemos e Fabiana Lemos), aos meus avós (José Lemos e Jandira Lemos), a mim e a todos àqueles que lutam todos os dias contra seus gatilhos.

Agradecimentos

Agradeço primeiramente a Deus por ter me concedido a honra de realizar mais um sonho e por ter me dado força e coragem concluir mais uma etapa, minha fé continua inabalável, Senhor. Tu és maravilhoso o tempo todo, sou imensamente grata pela vida e por todas as pessoas boas que colocastes em meu caminho nessa longa e dolorosa caminhada.

Agradeço aos meus pais e aos meus avôs, que são minha base, meu refúgio e minha força. Obrigada por todo apoio que me deram e me dão nas minhas escolhas, pelo amor incondicional que tens por mim, eu os amo infinitamente, tudo o que sou é por vocês. E às minhas irmãs que sempre torcem e acreditam em mim.

Agradeço à FACEPE pela concessão da bolsa de estudos através do projeto BCT-0228-5.06/21 "Inovações Tecnológicas para a Piscicultura do Estado de Pernambuco" e pelo financiamento do experimento através do projeto APQ-1182-5.06/21 intitulado como "Efeito *in vitro* e *in vivo* da adição de extrato natural e óleo essencial de *Anacardium occidentale* sobre desempenho zootécnico e prevenção de estreptococose em tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*" e à UFRPE por ter aberto às portas para mim.

Ao professor Luís Otávio Brito agradeço pela doação do fixador para ração, ao professor Fernando Leandro agradeço pela ajuda na produção e leitura das lâminas histológicas, pelas conversas, conselhos e confiança.

Aos meus amigos Fábio Alves e Rildo Andrade que estiveram comigo desde o início do curso, apoiando-me, ajudando-me, dando-me o ombro para chorar, torcendo por mim e pelo meu bem estar, sou muito grata a vocês.

E aos meus amigos Hélio Neto e Ana Cristina eu agradeço por sempre estarem comigo, apoiando-me, dando-me força para continuar e torcendo para que tudo acabasse bem.

Aos professores da pós que contribuíram de forma significativa para minha formação, em especial ao professor Alfredo Gálvez e Juliana Santos, que me deram a oportunidade de participar do projeto do qual minha bolsa foi concedida, eu também sou grata.

Enfim, meus agradecimentos não são somente para agradecer àqueles que contribuíram para conclusão de mais uma etapa acadêmica, mas sim para agradecer por todos que tiveram empatia, concluo mais uma etapa com mais certeza de quem quero ser como profissional e como pessoa.

Resumo

Surtos de doenças bacterianas causadas por *Streptococcus agalactiae* e *Aeromonas hydrophila* são considerados como um dos principais entraves para o desenvolvimento da produção intensiva de *Oreochromis niloticus* no Brasil e no mundo. Recentemente, como alternativa ao uso indiscriminado de antibióticos para controle de bactérias, têm-se aumentado a aplicação de fitoterápicos na aquicultura, devido às suas características de comprovada ação antimicrobiana e melhora do crescimento. Neste sentido, a espécie vegetal *Anacardium occidentale*, conhecida popularmente como cajueiro vermelho, embora tenha o uso de sua casca em loções e extratos hidroalcoólicos para combater infecções em humanos, não possui estudos de sua aplicação na tilapicultura. Assim, o objetivo do presente trabalho foi avaliar a influência da suplementação dietária do extrato etanólico de *A. occidentale* sobre as variáveis de desempenho zootécnico, as variáveis hematológicas e a morfologia intestinal de alevinos de *O. niloticus*. Inicialmente, foi realizado um teste *in vitro* com as bactérias *S. agalactiae* e *Aeromonas hydrophila* de Concentração Inibitória Mínima (MIC), a fim de determinar as concentrações no experimento *in vivo*. Um total de 180 alevinos de *O. niloticus* com peso médio inicial de 3,75 g foram distribuídos aleatoriamente em quatro tratamentos (densidade de 300 peixes/m³): (i) oferta de ração comercial com MIC para a concentração bacteriana de 10³ UFC/ml de *S. agalactiae*; (ii) oferta de ração comercial com MIC para a concentração bacteriana de 10⁵ UFC/ml de *S. agalactiae*; (iii) oferta de ração comercial com MIC para a concentração bacteriana de 10⁷ UFC/ml de *S. agalactiae* e; (iv) grupo controle (ração comercial sem adição de extrato), todos com três repetições cada. O experimento teve duração de 30 dias, no qual as rações experimentais foram ofertadas três vezes ao dia até a saciedade aparente. A cada 10 dias, foram efetuadas biometrias para análise das variáveis zootécnicas e, ao logo do experimento (início, meio e fim), amostras de sangue foram realizadas para avaliação das variáveis hematológicas. Para a determinação da morfologia intestinal, uma porção (3 cm) do intestino proximal de cada indivíduo foi retirada. Os resultados obtidos demonstraram que não houve diferença significativa para os valores médios de TCE, ganho de peso semanal e peso médio final entre os tratamentos. Menores valores médios de ganho de biomassa e sobrevivência foram determinados no tratamento com 3% de extrato, enquanto o menor FCA foi observado no tratamento com 5% de extrato. As concentrações testadas não interferiram nos parâmetros hematológicos dos peixes. O maior valor médio da altura das vilosidades intestinais foi determinado no tratamento com 4%. Por fim, o consumo do extrato etanólico a partir da ração não afetou de forma significativa os parâmetros zootécnicos nem hematológicos dos peixes, mas, a depender da dose, pode interferir na altura das vilosidades intestinais dos peixes

Palavras-chave: Fitoterápico, Piscicultura, Tilápia, Hematologia, Morfologia intestinal.

Abstract

Outbreaks of bacterial diseases caused by *Streptococcus agalactiae* and *Aeromonas hydrophila* are considered as one of the main obstacles to the development of intensive production of *Oreochromis niloticus* in Brazil and worldwide. Recently, as an alternative to the indiscriminate use of antibiotics to control bacteria, the application of herbal medicines in aquaculture has been increased due to its characteristics of proven antimicrobial action and improvement of growth. In this sense, the plant species *Anacardium occidentale*, popularly known as red cashew, although it has the use of its bark in lotions and hydroalcoholic extracts to fight infections in humans, has no studies of its application in tilapiculture. Thus, the objective of this study was to evaluate the influence of the diode supplementation of the ethanol extract of *A. occidentale* on the variables of zootechnical performance, hematological variables and intestinal morphology of fingerlings of *O. niloticus*. Initially, an *in vitro* test was performed with the bacteria *S. agalactiae* and *A. hydrophila* of Minimum Inhibition Concentration (MIC) in order to determine the concentrations in the *in vivo* experiment. A total of 180 fingerlings of *O. niloticus* with initial average weight of 3.75 g were randomly distributed into four treatments (density of 300 fish/m³): (i) offer of commercial feed with MIC for bacterial concentration of 10³ CFU/ml of *S. agalactiae*; (ii) offer of commercial feed with MIC for bacterial concentration of 10⁵ CFU/ml of *S. agalactiae*; (iii) offer of commercial feed with MIC for bacterial concentration of 10⁷ CFU/ml of *S. agalactiae* and; (iv) control group (commercial ration without addition of extract), all with three replications each. The experiment lasted 30 days, in which the experimental diets were offered three times a day until the apparent satiety. Every 10 days, biometrics were performed to analyze the zootechnical variables and, at the beginning of the experiment (beginning, middle and end), blood samples were performed to evaluate the hematological variables. To determine intestinal morphology, one portion (3 cm) of the proximal intestine of each individual was removed. The results showed that there was no significant difference for the mean values of TCE, weekly weight gain and final average weight between treatments. Lower mean values of biomass gain and survival were determined in the treatment with 3% of extract, while the lowest FCA was observed in the treatment with 5% of extract. The concentrations tested did not interfere in the hematological parameters of the fish. The highest mean height value of intestinal villi was determined in the treatment with 4%. Finally, the consumption of ethanol extract from feed did not significantly affect the zootechnical or hematological parameters of fish, but, depending on the dose, may interfere at the height of the intestinal villi of fish.

Key words: Herbal therapy, Fish farming, Tilapia, Intestinal Morphology.

Lista de tabelas

Tabela 1: Desempenho zootécnico (média \pm desvio padrão) de juvenis de *O. niloticus* alimentados com dietas suplementada com extrato 21

Tabela 2: Contagem diferencial dos leucócitos dos juvenis de *O. niloticus* no início, meio e fim do experimento 22

Tabela 3: Eritrograma, no início, meio e fim do experimento, de tilápia do Nilo alimentadas durante 30 dias com dieta à base de extrato da casca do caule de *Anacardium occidentale*..... 22

Tabela 4: Dados de comprimento e largura das vilosidades intestinais de juvenis de *O. niloticus* alimentados com dieta à base de extrato hidroalcólico..... 23

Sumário

Dedicatória	3
Agradecimentos.....	4
Lista de tabelas	7
1. Introdução.....	9
1.1- Contextualização da pesquisa	9
1.2- Objetivos	11
1.2.1 – Objetivo Geral	11
1.2.2- Objetivos específicos	11
2. Artigo científico:	12
1 - Introdução	13
2. Material e métodos	14
2.1 Obtenção e composição do extrato de <i>Anacardium occidentale</i>	14
2.2. Análise por Cromatografia Gasosa Acoplada a Espectrômetro de Massa	15
2.3 Cultura de <i>Streptococcus agalactiae</i> e <i>Aeromonas hydrophila</i>	15
2.4 Concentração inibitória mínima do extrato de <i>Anacardium occidentale</i>	15
2.5 Preparo da ração comercial com o extrato de <i>Anacardium occidentale</i>	16
2.6 Condições experimentais.....	16
2.7 Variáveis hematológicas	17
2.8 Análise histológica	17
2.9 Desempenho zootécnico.....	17
2.10 Análise estatística	17
3. Teoria	18
4. Resultados	18
5. Discussão.....	21
6. Conclusão	23
8. Aprovação ética.....	24
9. Agradecimento	24
10. Referências	24
4. Considerações finais	28

1. Introdução

1.1- Contextualização da pesquisa

Há décadas firmada como o setor mais produtivo dentro da aquicultura mundial, com 57,5 milhões de toneladas produzidas em 2020, a piscicultura ganha mais uma vez destaque como sendo a atividade mais produtiva de pescado cultivado, pois, de todo o montante produzido, representa um total de 66% de toda a produção da aquicultura mundial, gerando cerca de 146,1 bilhões de dólares ao ano (FAO, 2022). Ocupando o 3º lugar no ranking das espécies mais cultivadas mundialmente, com 4.407,2 mil toneladas produzidas, a *Oreochromis niloticus* representa 9% de todo o volume de peixes produzidos (FAO, 2022).

No Brasil, a piscicultura é o principal setor produtivo da aquicultura nacional, com aproximadamente de 559,1 mil toneladas produzidas em 2021 (IBGE, 2022). Neste cenário, a tilápia (*Oreochromis spp.*) mais uma vez ganha destaque na produção e se mantém no 1º lugar do ranking das espécies mais cultivadas nacionalmente, com 361,2 mil toneladas produzidas em 2021, ou seja, ela representa 64,6% de toda produção de peixes cultivados (IBGE, 2022). Desse total, o estado de Pernambuco aparece como maior produtor da região Nordeste, com 19.313 toneladas, ainda segundo dados do IBGE (2022), a tilápia é amplamente cultivada no território nacional devido às características de rusticidade, bom desempenho produtivo e aceitação de mercado dessa espécie. No entanto, apesar da *Oreochromis spp.* ser uma espécie rústica, a intensificação dos sistemas de cultivo juntamente com o manejo inadequado, tem possibilitado a instalação e a disseminação de doenças que comprometem a saúde desses animais, levando-os, não raramente, à morte e, conseqüentemente, a grandes perdas econômicas para os produtores.

Dentre os surtos de doenças bacterianas descritas na tilapicultura, destacam-se as causadas por *Streptococcus agalactiae*, *Aeromonas hydrophila*, *Francisella noatunensis*, *S. iniae*, *Pleisiomonas shigelloides* e *Edwardsiella tarda* (DELPHINO et al., 2019), pois são altamente virulentas e afetam a saúde dos animais cultivados, gerando altas taxas de mortalidade (El-SAYED, 2019).

A fim de controlar a mortalidade dos organismos cultivados, combater as infecções bacterianas e evitar grandes perdas econômicas nas pisciculturas, é frequente o uso recorrente de quimioterápicos, no entanto, seu uso indiscriminado para controle de bacterioses na aquicultura, podem contaminar os peixes e todos os organismos envolvidos na cadeia alimentar aquática, gerando resistência bacteriana (MONIR et al. 2020; RICO e VAN DEN BRINK,

2014; CHONG et al., 2020). Neste sentido, visando sanar os problemas causados pelas infecções bacterianas e buscando alternativas eficientes para o controle de bacterioses em peixes, algumas abordagens têm se destacado, como o uso de fitoterápicos.

Atualmente, muitos fitoterápicos têm sido utilizados para combater agentes infecciosos na aquicultura, pois eles possuem compostos químicos que inibem o crescimento desses organismos (THANIGAIVEL et al. 2015, sendo também considerados produtos economicamente viáveis com reduzido efeitos colaterais (CITARASU, 2010). Porém, além de analisar o efeito antibactericida dos fitoterápicos empregados na piscicultura e de levar em consideração o fator econômico, é necessário investigar a influência destes produtos alternativos sobre os animais cultivados. Yousefi et al (2019) em seu estudo com pó da folha de alecrim na dieta de *Cyprinus carpio* cultivados sob estresse e em alta densidade de estocagem, concluíram que o uso deste fitoterápico promove um maior crescimento dos animais, melhora os parâmetros antioxidantes e imunológicos e mitiga os efeitos negativos do estresse causado pela alta densidade.

Valladão et al. (2017) observaram que a utilização de óleos essenciais de *Mentha piperita* e de *Melaleuca alternifolia* na dieta de tilápia do Nilo aumenta a imunidade inata e contribuem significativamente para a resposta imunológica dessa espécie, aumentando também, o tamanho da vilosidade intestinal destes peixes, proporcionando assim um intestino mais saudável para os peixes alimentados com essa dieta. Segundo Wu et al. (2013), a suplementação da dieta com *Sophora flavescens* contribui para aumento da imunidade, resistência e sobrevivência de tilápia desafiadas com *Streptococcus agalactiae*.

Além dos fitoterápicos mencionados, outras plantas medicinais, que apresentam atividade antimicrobiana, como é o caso do extrato de *Anacardium occidentale*, são corriqueiramente utilizadas na medicina tradicional e podem ser consideradas como potenciais produtos alternativos para uso na aquicultura. A *Anacardium occidentale*, conhecida popularmente como cajueiro-vermelho é uma planta oriunda do Nordeste brasileiro, com características terapêuticas: ação antimicrobiana, cicatrizante, analgésica, efeitos hipotensivos entre outros (PADILHA et al., 2020).

A casca do caule dessa planta é rica em taninos flobabênicos, fenóis, catequinas, alcalóides, ácidos anacárdicos com cadeia lateral insaturada entre outros compostos (SANTOS, 2011; CHAVES et al., 2010), que conferem à casca função antimicrobiana e anti-estresse. Os fenóis presentes na nesta parte da planta possuem uma ação inespecífica sobre microrganismos,

rompendo a parede celular bacteriana e inibindo os sistemas enzimáticos para sua formação (HASLAM, 1995; JORGE et al., 1996; AKINPELU, 2001), características que a fazem um promissor fitoterápico para o controle de bacterioses na aquicultura.

1.2- Objetivos

1.2.1 – Objetivo Geral

- ✓ Analisar o efeito do extrato hidroalcólico da casca do caule da *Anacardium occidentale* sobre as variáveis de desempenho zootécnico, as variáveis hematológicas e a morfologia intestinal de alevinos de *O. niloticus*.

1.2.2- Objetivos específicos

- ✓ Determinar os constituintes químicos do extrato etanólico da casca do caule de *Anacardium occidentale*;
- ✓ Avaliar, *in vitro*, a ação antibacteriana do extrato de *A. occidentale* sobre as bactérias *Streptococcus agalactiae* e *Aeromonas hydrophila*;
- ✓ Avaliar a influência da suplementação dietária do extrato de *A. occidentale* sobre as variáveis de desempenho zootécnico, as variáveis hematológicas e a morfologia intestinal de alevinos de *O. niloticus*.

2. Artigo científico:

EFEITO DO EXTRATO ETANÓLICO DE *Anacardium occidentale* SOBRE O DESEMPENHO ZOOTÉCNICO, PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS E MORFOLOGIA INTESTINAL DE ALEVINOS DE *Oreochromis niloticus*

Islaine Lemos Felix^a, Fernando Leandro dos Santos^b, Scarlatt Paloma Alves da Silva^a, Sérgio Pereira Caldas^a, Gisely Karla de Almeida Costa^a, Suzianny Maria Bezerra Cabral da Silva^{a*}

^a Departamento de Pesca e Aquicultura (DEPAq). Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE). Rua Dom Manoel de Medeiros - s/n, Dois Irmãos, Recife, Pernambuco, Brasil, CEP 52.171-900.

^b Departamento de Medicina Veterinária. Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE). Rua Dom Manoel de Medeiros - s/n, Dois Irmãos, Recife, Pernambuco, Brasil, CEP 52.171-900.

* autor correspondente: suzianny.silva@ufrpe.br

Abstract

O objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito do extrato etanólico da casca do caule da *Anacardium occidentale* sobre o desempenho zootécnico, variáveis hematológicas e morfologia intestinal de alevinos de *Oreochromis niloticus*. Inicialmente, foi realizado o teste de Concentração Inibitória Mínima (MIC) do extrato (1% a 5%) sobre três concentrações de *S. agalactiae* e *A. hydrophila* (10^3 , 10^5 e 10^7 UFC/ml) para determinação das concentrações a serem usadas na dieta dos animais. Em seguida, alevinos de *O. niloticus* foram submetidos às dietas contendo o extrato de *A. occidentale*, gerando os tratamentos (densidade de 300 peixes/m³): (i) oferta de ração comercial com MIC para a concentração bacteriana de 10^3 UFC/ml de *S. agalactiae*; (ii) oferta de ração comercial com MIC para a concentração bacteriana de 10^5 UFC/ml de *S. agalactiae*; (iii) oferta de ração comercial com MIC para a concentração bacteriana de 10^7 UFC/ml de *S. agalactiae* e; (iv) grupo controle (ração comercial sem adição de extrato), todos com três repetições cada. O experimento teve duração de 30 dias, no qual as rações experimentais foram ofertadas três vezes ao dia até a saciedade aparente. A cada 10 dias, foram efetuadas biometrias para análise das variáveis zootécnicas e, ao logo do experimento (início, meio e fim), amostras de sangue foram realizadas para avaliação das variáveis hematológicas. Para a determinação da morfologia intestinal, uma porção (3 cm) do intestino proximal de cada indivíduo foi retirada. Os resultados da MIC observados para as concentrações de 10^3 , 10^5 e 10^7 UFC/ml de *S. agalactiae* foram, respectivamente, de 3%, 4% e 5% do extrato, enquanto para *A. hydrophila*, as concentrações do extrato que inativou as concentrações de 10^3 , 10^5 e 10^7 UFC/ml foram, respectivamente, 4%, 4% e 5%. Não houve diferença significativa para os valores médios de TCE, ganho de peso semanal e peso médio final entre os tratamentos. Menores valores médios de ganho de biomassa e sobrevivência foram observados no tratamento com 3% de extrato, enquanto que o menor FCA foi observado no tratamento com 5% de inclusão. As concentrações testadas não interferiram nos parâmetros hematológicos dos peixes, mas o maior valor médio da altura das vilosidades intestinais foi observado no tratamento com 4%, o que indica a interferência das concentrações 3% e 5% na mucosa intestinal de alevinos de *O. niloticus*. Logo, o consumo do extrato etanólico a partir da ração não afetou de forma significativa os parâmetros zootécnicos nem hematológico dos peixes, no entanto, seu consumo oral, dependendo da dose, pode alterar a mucosa dos peixes.

Palavras-chave: Fitoterápico, Tilápia, Piscicultura, Hematologia, Desempenho zootécnico, Histologia.

1 - Introdução

Ocupando o 3º lugar no ranking das espécies aquícolas mais cultivadas mundialmente, a *Oreochromis niloticus* representa 9% de todo o volume de pescado produzido na piscicultura mundial (FAO, 2022). No Brasil, essa espécie se mantém no 1º lugar do ranking das espécies mais cultivadas nacionalmente, com 361,2 mil toneladas produzidas em 2021, representando 64,6% de toda produção de peixes cultivados (IBGE, 2022). Este fato se dá devido às características de rusticidade, bom desempenho produtivo e aceitação de mercado dessa espécie (Peixe BR, 2021). Entretanto, apesar da tilápia se desenvolver bem em diferentes ambientes de cultivo e ser produzida em praticamente todo território nacional, a intensificação dos sistemas de cultivo, juntamente com seu manejo incorreto, tem possibilitado grandes perdas econômicas para o setor devido a instalação e a disseminação de doenças que comprometem a saúde desses animais (El-SAYED, 2019).

Na piscicultura nacional e internacional tem sido descrito inúmeros surtos de doenças, bacteriana, principalmente as causadas pelas bactérias *Francisella noatunensis* subsp. *orientalis*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus iniae*, *Aeromonas hydrophila*, *Pleisiomonas shigelloides* e *Edwardsiella tarda*, bactérias que podem causar infecções em tilápias (DELPHINO et al., 2019). Essas bactérias podem provocar altas taxas de mortalidade nos organismos cultivados, uma vez que podem causar anorexia, letargia, natação errática, palidez dos órgãos, entre outros sinais clínicos.

Para conter os danos causados e controlar os microrganismos patogênicos nos peixes, é comum o uso de antibióticos na aquicultura, no entanto, devido ao uso indiscriminado destes fármacos ao longo dos anos, as bactérias tem adquirido resistência a estes, tem gerando problemas ambientais e de saúde pública (MONIR et al. 2020; RICO e VAN DEN BRINK, 2014; CHONG et al., 2020). Contudo, o uso de fitoterápicos tem se mostrado eficiente no controle de bacterioses na piscicultura (KUEBUTORNYE e ABARIKE, 2020).

Na atualidade o uso de fitoterápicos tem ganhado destaque, pois, além servirem como agente antimicrobiano, eles são utilizados como aditivos alimentares e imunoestimulantes, uma vez que, em sua maioria, eles possuem compostos químicos que potencializam a imunidade dos animais, tornando o animal mais resistente às doenças e externalidades, promovem maior crescimento e sobrevivência (VALLEJOS-VIDAL et al., 2016; YOUSEFI et al., 2019; VALLADÃO et al., 2017; MONIR et al., 2020).

Em meio às plantas medicinais utilizadas na medicina tradicional, destaca-se a *Anacardium occidentale*, uma planta conhecida popularmente como cajueiro vermelho, nativa do Nordeste brasileiro, com propriedades terapêuticas como: ação antimicrobiana, cicatrizante, analgésica (PADILHA et al., 2020) devido a sua composição química, uma vez que ela é rica em taninos, fenóis, catequinas, alcalóides, ácidos anacárdicos, esteroides, entre outros (SANTOS, 2011; CHAVES et al., 2010),

Os fitoterápicos são considerados produtos economicamente baratos e eficazes, com menos efeitos colaterais (CITARASU, 2010), porém, além de analisar o efeito antibactericida destes produtos alternativos na piscicultura e de levar em consideração o fator econômico, é necessário investigar a influência destes produtos alternativos sobre os animais cultivados. Logo, o objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito do extrato sobre o desempenho zootécnico de alevinos de *O. niloticus*, bem como seu efeito sobre o desenvolvimento das vilosidades intestinais e parâmetros hematológicos destes animais.

2. Material e métodos

2.1 Obtenção e composição do extrato de *Anacardium occidentale*

A obtenção do extrato foi feita a partir das cascas do caule do cajueiro vermelho (*Anacardium occidentale*). As cascas foram coletadas em março de 2022, no povoado Saúde, município de Santana do São Francisco – SE, (10°15'29.5"S 36°37'45.0"W). Para confirmação da referida espécie, uma exsicata da planta foi enviada e depositada no Herbário Professor Vasconcelos Sobrinho do Departamento de Botânica da UFRPE, onde foi confirmada sua identificação e registrada seu número de tombamento (55.928 PEUFR).

As cascas do caule foram secas em estufa a 33°C por uma semana, triturada a pó com o auxílio de moinho de facas e então submetida ao processo de extração. Para a produção do extrato, foi colocado 25g do pó das cascas e, diariamente, foi adicionado 100ml do etanol a 70%. Durante sete dias, foi adicionada uma alíquota do etanol à mistura, sendo esta solução agitada mecanicamente durante um minuto para homogeneização, atingindo-se ao final uma relação de 25g do pó para um total de 700ml de volume. Após este processo o extrato foi filtrado em filtro Whatman nº1, esterilizado em membrana filtrante de 0,22 µm e aliqotado em duas amostras, uma para determinação da composição química e, outra, para uso experimental (adição na ração). A alíquota para análise química foi rotaevaporada a 45°C, armazenada a -80°C e liofilizada. Para o uso na ração, o extrato foi armazenado em embalagem estéril âmbar a ambiente.

2.2. Análise por Cromatografia Gasosa Acoplada a Espectrômetro de Massa

Para confirmação do perfil químico da referida amostra vegetal, a alíquota liofilizada foi ressuspendida em metanol e então analisada em Cromatógrafo Gasoso acoplado a Espectrômetro de Massa - CG/MS (Varian 220-MS) com uma coluna capilar direta TG-5MS (30 m × 0,25 mm x 0,25 µm), conforme Monir et al. (2020). Os espectros de massa foram coletados em voltagens de ionização de 70 e na faixa de m/z 40–1000 no modo de varredura completa. A temperatura da fonte de íons foi fixada em 200°C e os componentes identificados por comparação de seus tempos de retenção e espectros de massa com os dados da biblioteca espectral (MCLAFFERTY e STAUFFER, 1994) e por meio de índices de retenção calculados já publicados (ADAMS, 2007).

2.3 Cultura de *Streptococcus agalactiae* e *Aeromonas hydrophila*

As cepas liofilizadas da bactéria Gram-positiva *Streptococcus agalactiae* (ATCC 13813) e da Gram-negativa *Aeromonas hydrophila* (ATCC 7966) foram obtidas da Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), ativadas e cultivadas em caldo infusão cérebro coração (BHI) a 37°C e em caldo nutriente a 30°C, respectivamente, por 24 horas a 175 rpm, conforme protocolo FIOCRUZ (2016). Em seguida, as culturas foram centrifugadas a 4000 g durante 10 minutos, o sobrenadante descartado e as células sedimentadas lavadas duas vezes e ressuspendidas em tampão fosfato salino (PBS 1X, pH 7,4) para padronização do inóculo, cuja turvação fosse similar ao tubo 0,5 da escala de McFarland (1×10^8 UFC/mL). Posteriormente, a suspensão foi diluída à 10^3 , 10^5 e 10^7 UFC/ml para uso nos ensaios de Concentração Inibitória Mínima do extrato de *A. occidentale*.

2.4 Concentração inibitória mínima do extrato de *Anacardium occidentale*

Para identificar o potencial antibacteriano do extrato sobre *Streptococcus agalactiae* e *A. hydrophila*, foram realizados testes *in vitro* de concentração inibitória mínima (MIC) para concentrações bacterianas de 10^3 , 10^5 e 10^7 UFC/ml usando o método de microdiluição em série em um volume final de 100µl, seguindo metodologia de Hancock (1999). Os tratamentos em triplicata cada foram: controle negativo (meio de cultura não inoculado); controle positivo (meio de cultura inoculado somente com bactérias); cinco concentrações crescentes do extrato de *Anacardium occidentale* (1%, 2%, 3%, 4% e 5%) adicionadas em poços contendo 10^3 , 10^5 e 10^7 UFC/ml de *S. agalactiae* e *A. hydrophila* e; álcool de cereais (meio de cultura inoculado com bactérias na presença de etanol). Em seguida, as placas contendo *S. agalactiae* foram incubadas a 37°C, enquanto as com *A. hydrophila*, foram mantidas a 30°C, ambas por 24 horas. O teste MIC foi definido como a concentração mais baixa do extrato capaz de inibir o

crescimento bacteriano para as concentrações avaliadas. Estes valores foram usados para o preparo da ração a ser ofertada no experimento.

2.5 Preparo da ração comercial com o extrato de *Anacardium occidentale*

Após a determinação do MIC de *A. occidentale* para as concentrações bacterianas avaliadas, o extrato foi acrescido à ração comercial para peixes onívoros (35% proteína bruta, 8% extrato etéreo, 13% umidade, 4% fibra bruta, 12% material mineral, 3% cálcio, e 1,3% de fósforo). O procedimento de inclusão na ração foi feito conforme Dairiki et al. (2013), utilizando álcool de cereal como veículo. Semanalmente, para cada quilograma de ração, foram borrifados 100 ml etanol contendo o extrato nas concentrações determinadas no ensaio de MIC. Em seguida, para manter o extrato incorporado, a ração recebeu uma camada de alginato de sódio a 10% por 10 minutos, e seca por 24 horas a 25°C em estufa, sendo posteriormente armazenada a - 20°C até o momento da alimentação. A ração do grupo controle recebeu apenas o álcool de cereal e foi preparada da mesma forma descrita anteriormente.

2.6 Condições experimentais

Foram utilizados 180 alevinos de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) aparentemente saudáveis, com peso médio inicial de 3,75g, adquiridos de produtor comercial. Os peixes recém chegados foram examinados para verificação do estado de saúde através de exame a fresco de 30 indivíduos (prevalência esperada de 10%), e então transferidos para as unidades experimentais de 50L (densidade de 300 peixes/m³) nas quais foi conduzida a oferta da ração comercial com os extratos de *Anacardium occidentale*. As unidades experimentais foram caixas retangulares de polietileno com aeração constante e filtros biológicos, constituindo um delineamento experimental inteiramente casualizado e com sistema de recirculação de água.

Os tratamentos foram: (i) oferta de ração comercial com MIC para a concentração bacteriana de 10³ UFC/ml de *Streptococcus agalactiae*; (ii) oferta de ração comercial com MIC para a concentração bacteriana de 10⁵ UFC/ml de *Streptococcus agalactiae*; (iii) oferta de ração comercial com CIM para a concentração bacteriana de 10⁷ UFC/ml de *Streptococcus agalactiae* e (iv) grupo controle (ração comercial sem adição de extrato), todos com três repetições cada.

Durante 30 dias, a ração foi preparada, pesada e ofertada aos animais em três refeições diárias (8, 12 e 16 horas), até aparente saciedade. O oxigênio dissolvido, a temperatura e o pH (7,5 ± 0,2) da água foram monitorados diariamente com sonda multiparâmetro (HANNA HI 9828), enquanto a amônia e nitrito foram verificados a cada sete dias com espectrofotômetro (HANNA, EUA) A cada 10 dias, foram feitas biometrias para avaliação das variáveis de

desempenho zootécnico. O experimento foi autorizado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal Rural de Pernambuco/ Brasil (nº 6647140921).

2.7 Variáveis hematológicas

Para avaliação dos parâmetros hematológicos, no início, meio e fim do experimento, foi coletado um peixe de cada unidade experimental. Estes foram anestesiados com benzocaína 100mg/l e, após anestesia completa, amostras de sangue de cada peixe foram coletadas através de punção em veia caudal com seringa tratada com EDTA a 10%. As variáveis hematológicas do presente estudo foram analisadas segundo Ranzani-Paiva et. al. (2013), sendo: (%) Monócito, (%) Linfócito, (%) Neutrófilo, (%) Eosinófilo, (%) Trombócito e contagem de eritrócitos.

2.8 Análise histológica

Para avaliação do efeito do extrato sobre o intestino dos peixes, amostras deste órgão foram coletadas assepticamente e fixadas por imersão em solução de Davidson AFA por 24 horas, seguida de transferência das amostras para etanol a 70%. Em seguida, as amostras foram desidratadas em concentrações graduadas de etanol, imersas em xilol e incluídas em cera de parafina. Após o processamento, os tecidos foram seccionados (3 µm) e corados com hematoxilina e eosina para posterior visualização e determinação dos tamanhos das vilosidades por meio de microscópio. A altura das vilosidades correspondeu à distância do ápice das vilosidades até o início da camada muscular, e a largura de uma margem da vilosidade à outra. Para tanto, foi utilizada microscopia de luz com o auxílio do software ImageJ.

2.9 Desempenho zootécnico

Para determinação do efeito do extrato sobre o desempenho zootécnico dos peixes, foram calculadas as seguintes variáveis a partir de cada biometria realizada: ganho de biomassa (biomassa final (g) - biomassa inicial (g)); taxa de crescimento específico (TCE) (%/dia = $100 \times (\ln \text{ peso final (g)} - \ln \text{ peso inicial (g)}) / \text{tempo de cultivo}$); peso médio final (biomassa final (g) / nº de indivíduos ao final do cultivo); Crescimento semanal (ganho de biomassa (g) / semanas de cultivo); fator de conversão alimentar (FCA) (quantidade de ração ofertada / ganho de biomassa); sobrevivência (nº de indivíduos ao final do cultivo / nº inicial de indivíduos estocados x 100).

2.10 Análise estatística

Os resultados foram submetidos aos testes de homogeneidade (teste de Levene), normalidade (teste de Shapiro–Wilk) e, para identificar diferenças entre tratamentos, foram

submetidos à ANOVA unidirecional seguido do teste de Tukey (HSD - Honest Significant Difference), quando atendido os preceitos. Para dados não paramétricos, foi usado o teste de Kruskal-Wallis seguido do teste Mann-Whitney (Comparação Pairwise) com a correção de Bonferroni (ZAR, 2013), utilizando o software R.

3. Teoria

Atualmente, muitos fitoterápicos têm sido utilizados para combater infecções microbianas na aquicultura, pois possuem compostos químicos que potencializam a imunidade dos animais (VALLEJOS-VIDAL et al., 2016). Yousefi et al (2019), relatam que o uso do pó da folha de alecrim na dieta de *Cyprinus carpio* cultivados sob estresse e em alta densidade de estocagem promove um maior crescimento dos animais, melhora os parâmetros antioxidantes e imunológicos e mitiga os efeitos negativos do estresse causado pela alta densidade. Segundo Valladão et al. (2017), os óleos essenciais de *Mentha piperita*, de *Melaleuca alternifolia* e de *T. vulgaris* quando ofertadas nas dietas de tilápia do Nilo, contribuem significativamente para a resposta imunológica dos peixes. Já o extrato da planta *Azadirachta indica*, resultou em atividade antimicrobiana contra bactérias isoladas de *O. Mossambicus* (THANIGAIVEL et al. 2015). Estes estudos indicam o efeito benéfico do uso de fitoterápicos na piscicultura, embora ainda não estejam descritas a aplicação de plantas nativas do nordeste brasileiro para este fim. Neste sentido, estudos com a casca do caule da planta *Anacardium occidentale* aplicados à tilapicultura, constituem uma linha a ser avaliada. *A. occidentale* possui ação inespecífica sobre microrganismos, rompendo a parede celular bacteriana e inibindo os sistemas enzimáticos para a formação de bactérias, por conter taninos flobabênicos, fenóis, catequinas, alcalóides, ácidos anacárdicos com cadeia lateral insaturada entre outros compostos em sua composição (CHAVES et al., 2010; SANTOS, 2011).

4. Resultados

De acordo com as análises realizadas em cromatografia gasosa, foram identificados os compostos fenólicos, taninos, catequinas e alcalóides no extrato hidroalcolico de *A. occidentale*.

Em relação aos testes *in vitro* para as concentrações bacterianas analisadas, todas as amostras foram sensíveis ao extrato, no entanto, em termos da MIC, as concentrações do extrato capazes de produzir ação inibitória total contra as concentrações de 10^3 , 10^5 e 10^7 UFC/ml das bactérias *S. agalactiae* foram 3%, 4% e 5%, respectivamente. Já para as concentrações de 10^3 , 10^5 e 10^7 UFC/ml das bactérias *A. hydrophila*, os valores da MIC do extrato foram, respectivamente, 4%, 4% e 5%, não sendo registrado desenvolvimento de bactérias no controle

negativo. Em virtude dos resultados do MIC, o percentual do extrato utilizado na ração foi de 3, 4 e 5%.

Para as variáveis de qualidade de água, não foram determinadas diferenças significativas entre os tratamentos, que apresentaram valores médios de temperatura de $28,6 \pm 0,47^\circ\text{C}$, de O.D. (mg/l) de $76,41 \pm 5,37$, de pH $7,27 \pm 0,35$, de amônia $0,38 \pm 0,20$ mg/L e de nitrito de $1,40 \pm 2,35$ mg/L.

Os valores médios de ganho de biomassa (GB), taxa de crescimento específico (TCE), ganho de peso semanal (GPS), peso médio final (PMF), fator de conversão alimentar (FCA) e sobrevivência (S) dos animais ao longo do período experimental estão apresentados na tabela 1.

Não houve diferença significativa no ganho de biomassa entre os tratamentos 4%, 5% e Controle, no entanto, houve diferença entre estes e o tratamento 3%, que foi semelhante somente com o tratamento 4%. Ainda de acordo com os dados apresentados, não houve diferença significativa na TCE (g), no GPS (g) e no PMF (g) entre os tratamentos.

De acordo com os valores do FCA encontrados, pode-se perceber que o tratamento 3% é considerado estatisticamente diferente do tratamento 5%, mas é semelhante aos tratamentos 4% e Controle, não apresentando assim diferença significativa entre os valores, entretanto, estes foram estatisticamente iguais ao tratamento 5%, ou seja, somente ocorreu diferença significativa entre os tratamentos 3% e 5%.

Ainda analisando os dados adquiridos no presente estudo, verifica-se uma taxa de sobrevivência média de 60% para o tratamento 3%, sendo este significativamente distinto dos tratamentos 4%, 5% e Controle, que apresentaram, respectivamente, 73%, 78% e 76% de sobrevivência, sendo estes estatisticamente iguais ($p > 0,05$).

Tabela 1: Desempenho zootécnico (média \pm desvio padrão) de juvenis de *Oreochromis niloticus* alimentados com dietas suplementada com extrato.

Tratamento	GB (g)	TCE (g)	GPS (g)	PMF (g)	FCA	S (%)
3%	$75,30 \pm 9,25^a$	$4,50 \pm 0,55^a$	$2,78 \pm 0,65^a$	$14,95 \pm 2,64^a$	$2,03 \pm 0,17^a$	60 ± 7^a
4%	$93,79 \pm 8,76^{ab}$	$4,32 \pm 0,22^a$	$2,48 \pm 0,23^a$	$13,65 \pm 0,93^a$	$1,57 \pm 0,09^{ab}$	73 ± 7^b
5%	$117,57 \pm 9,91^b$	$4,62 \pm 0,17^a$	$2,80 \pm 0,22^a$	$14,92 \pm 0,98^a$	$1,33 \pm 0,07^b$	78 ± 8^b
Controle	$111,03 \pm 22,57^b$	$4,60 \pm 0,33^a$	$2,76 \pm 0,38^a$	$14,71 \pm 1,50^a$	$1,49 \pm 0,31^{ab}$	76 ± 10^b

Valores médios \pm desvio padrão. GB - Ganho de Biomassa, TCE - Taxa de Crescimento Específico, GPS - Ganho de Peso Semanal, PMF - Peso Médio Final, FCA - Fator de Conversão Alimentar e S - Sobrevivência. Letras diferentes na mesma coluna mostram diferença significativa ($p \leq 0,05$).

A inclusão do extrato nas concentrações de 3, 4 e 5% não alterou os parâmetros hematológicos da tilápia do Nilo, sendo estes estatisticamente semelhantes ($p>0,05$) ao Controle ao final dos 30 dias experimentais (Tabelas 2 e 3)

Tabela 2: Contagem diferencial dos leucócitos dos juvenis de *Oreochromis niloticus* no início, meio e fim do experimento.

Leucograma Inicial				
Tratamento	Monócito (%)	Linfócito (%)	Neutrófilo (%)	Trombócito (%)
Amostras iniciais	0,8±1,74	66,05±15,41	24,4±12,91	3,95±3,96
Leucograma Meio				
Tratamento	Monócito (%)	Linfócito (%)	Neutrófilo (%)	Trombócito (%)
3%	0±00 ^a	53,50±20,59 ^a	45,00±20,44 ^a	0,5±00 ^a
4%	0±00 ^a	83,90±10,45 ^a	11,20±9,57 ^a	0,8±0,57 ^a
5%	0±00 ^a	43,83±7,65 ^a	23,83±8,43 ^a	1,67±1,53 ^a
Controle	0±00 ^a	63,50±29,19 ^a	35,10±30,58 ^a	0,6±0,65 ^a
Leucograma Final				
Tratamento	Monócito (%)	Linfócito (%)	Neutrófilo (%)	Trombócito (%)
3%	1,79±1,52 ^a	77,71±12,78 ^a	18,30±12,43 ^a	2,19±1,60 ^a
4%	1,19±1,08 ^a	81,43±6,50 ^a	16,38±5,15 ^a	0,89±1,07 ^a
5%	5,96±4,28 ^a	77,00±8,81 ^a	13,93±1,67 ^a	1±1,41 ^a
Controle	3,15±2,85 ^a	84,59±9,83 ^a	11,60±6,79 ^a	0,66±0,57 ^a

Valores médios ± desvio padrão. Letras diferentes na mesma coluna mostram diferença significativa entre tratamentos.

Tabela 3: Eritrograma, no início, meio e fim do experimento, de tilápia do Nilo alimentadas durante 30 dias com dieta à base de extrato da casca do caule de *Anacardium occidentale*.

Eritrograma						
Tratamento	Hematócrito (%)		Eritrócito (10 ⁶)		VCM (fL)	
Amostras iniciais	10,2±3,49		0,93±0,37		116,77±51	
	Meio	Fim	Meio	Fim	Meio	Fim
3%	12,67±0,58 ^a	9±1,73 ^a	1,86±1,08 ^a	1,25±0,31 ^a	81,66±35,04 ^a	78±37,85 ^a
4%	11±3,46 ^a	14,67±3,21 ^a	1,56±0,40 ^a	1,77±0,22 ^a	73,31±30,44 ^a	84,69±25,82 ^a
5%	11±1 ^a	16,33±3,05 ^a	1,55±0,09 ^a	2,86±0,82 ^a	71,11±2,35 ^a	58,87±11,15 ^a
Controle	12,33±4,62 ^a	10±3,61 ^a	1,01±0,15 ^a	1,02±0,30 ^a	119,30±30,82 ^a	97,04±11,48 ^a

Valores médios ± desvio padrão. Letras diferentes na mesma coluna mostram diferença significativa entre tratamentos. VCM (fL) = volume corpuscular médio.

Para a altura das vilosidades, os tratamentos 3%, 4% e 5% não diferiram estatisticamente entre si, já o tratamento Controle somente foi igual estatisticamente ao tratamento 4%. No

entanto, de acordo com os valores médios das larguras das vilosidades intestinais dos indivíduos estudados, não houve diferença significativa entre ambos os tratamentos, como mostra a tabela 4.

Tabela 4: Dados de altura e largura das vilosidades intestinais de juvenis de *Oreochromis niloticus* alimentados com dieta à base de extrato hidroalcólico.

Tratamentos	Altura	Largura
3%	207,24±65,95 ^a	80,79±13,03 ^a
4%	235,19±64,76 ^{ab}	77,26±11,86 ^a
5%	208,27±42,60 ^a	86,24±18,82 ^a
Controle	289,95±69,52 ^b	84,27±14,67 ^a

Valores médios ± desvio padrão. Letras diferentes na mesma coluna mostram diferença significativa entre tratamentos.

5. Discussão

Os resultados de composição química encontrados no presente trabalho estão de acordo com os já descritos na literatura, Segundo Santos (2011) e Chaves et al. (2010), ao avaliar a composição química do extrato da casca do caule foram identificadas a presença de taninos flobabênicos (taninos condensados e hidrolisáveis), fenóis, catequinas, alcalóides, ácidos anacárdicos com cadeia lateral insaturada (monoeno e dieno), esteroides livres, glicosilados e esterificados com ácidos graxos, sitosterol e stigmasterol, que conferem à casca função antimicrobiana.

Os parâmetros de qualidade de água apresentados se mantiveram dentro do considerado adequado para manutenção da condição de saúde dos peixes tropicais segundo Kubitzka (2003) e Duarte et al. (2014).

Levando em consideração os resultados da MIC, é possível afirmar que o extrato hidroalcólico da casca do caule apresenta ação antibactericida em todos os tratamentos testados, no entanto, sua ação antimicrobiana é mais efetiva em bactérias Gram-positivas. A maior suscetibilidade das bactérias Gram-positivas aos fármacos pode ser explicada devido à estrutura celular desses organismos, que, apesar de ter uma parede celular mais espessa que as bactérias Gram-negativas, o elemento estrutural mais importante é a macromolécula peptidoglicano (SEIBERT et al. 2019).

Já a estrutura apresentada pelas Gram-negativas confere a elas uma maior resistência à penetração dos fármacos devido a presença de lipopolissacarídeos na camada externa, que impedem a permeabilidade e a susceptibilidade a agentes antibacterianos (SILVA et al. 2019);

SANTOS et al. (2011)), o que confirma que os compostos fenólicos presentes na referida planta possuem uma ação inespecífica sobre microrganismos, rompendo a parede celular bacteriana e inibindo os sistemas enzimáticos para a sua formação (HASLAM, 1995; JORGE et al., 1996; AKINPELU, 2001), a ação antibacteriana do extrato pode estar associada a presença dos ácidos anacárdicos presentes na casca do caule, pois eles, segundo Gellerman et al. (1968), Himejima e Kubo (1991) e Parasa et al. (2011) são considerados letais para as bactérias gram-positivas.

Os presentes resultados também corroboram com os encontrados por Silva et al (2007) e Laurens et al. (1992), que detectaram o efeito antibacteriano do extrato do cajueiro vermelho sobre as bactérias *S. aureus* multirresistente, *Proteus morgani*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* e *Salmonella typhi* quando utilizaram altas concentrações do fitoterápico em questão. A maior atividade bactericida encontrada no presente experimento para *A. hydrophila* diz respeito as concentrações mais altas do extrato, 4% e 5%, o que demonstra que o extrato hidroalcolico é eficiente tanto para bactérias Gram-positivas quanto para Gram-negativas, a diferença está somente na concentração do produto, uma vez que seu efeito é dose-dependente.

A taxa de crescimento específico, o ganho de peso semanal e o peso médio final não mostraram diferença significativa entre os tratamentos, isto pode ser considerado corriqueiro para o uso de fitoterápico como aditivo alimentar, como mostra Silva et al. (2019), em estudo sobre influência da suplementação dietética com óleo essencial de *Mentha piperita* sobre parâmetros hematológicos e zootécnicos de tilápia do Nilo, e Pereira et al. (2020) com avaliação dos efeitos da suplementação dietética de hidrolato de Curcuma sobre parâmetros zootécnicos de tilápia do Nilo cultivada em sistema de recirculação, ambos relatam que o uso de fitoterápico não afeta o desenvolvimento dos peixes alimentados com ração à base dos produtos alternativos em seus estudos que o peso final, comprimento total, sobrevivência, ganho em peso, conversão alimentar aparente e taxa de crescimento específico dos peixes alimentados com dietas suplementadas com e sem óleos essenciais e extratos não apresentam diferença significativa entre tratamentos.

A falta da melhora do desempenho zootécnico dos animais alimentados com ração à base deste produto pode estar associada às baixas dosagens utilizadas, uma vez que seu efeito é dose-dependente (HARIKRISHNAN et al. 2011), isso pode ser visto na comparação dos valores apresentados na tabela 1 que, apesar de não demonstrar diferença significativa entre os tratamentos, é possível visualizar em números reais um aumento do GB, da TCE, do GPS e da Sobrevivência dos peixes alimentados com a dieta de maior concentração do extrato, bem como um FCA menor em comparação aos demais tratamentos.

As dietas com diferentes níveis de adição do extrato hidroalcolico não causaram efeito nos parâmetros hematológicos dos peixes, uma vez que não houve diferença significativa entre os tratamentos analisados, demonstrando que a saúde dos animais alimentados com ração à base de extrato não foi afetada e se manteve durante todo o experimento, pois, segundo Vosyliené (1999), quando há redução na contagem de hemácias e de hematócrito é um indício de anemia e de agravamento do estado de saúde do peixe, dado não visto no presente trabalho, que, de acordo com a tabela 3, mostrou que o percentual de hematócrito continuou o mesmo ou teve um leve aumento em números totais em todos os tratamentos, sendo que o valor percentual do hematócrito inicial passou de $10,2 \pm 3,49$ para $9 \pm 1,73$, $14,67 \pm 3,21$, $16,33 \pm 3,05$, $10 \pm 3,61$ nos tratamentos 3%, 4%, 5% e Controle, respectivamente, o que demonstra mais uma vez que o extrato não afeta os parâmetros hematológicos dos peixes.

Assim como este trabalho, outros relatos na literatura demonstram que, apesar dos fitoterápicos serem comprovadamente eficazes contra microrganismos patogênicos, eles não interferem nos parâmetros hematológicos dos peixes, como mostra Araujo et al. (2011) em seu estudo com dieta de tilápia à base de óleo de milho, de girassol e de linhaça, cuja diferença significativa entre os parâmetros hematológicos dos peixes que foram alimentados com essas dietas não foi observada, Yildirim-Aksoy et al. (2007), que encontram resultados semelhantes ao deste trabalho ao estudar os efeitos do consumo de rações com 7% de óleos de milho, de peixe, de linhaça e sebo bovino nos parâmetros hematológicos e na resposta imune de tilápias do Nilo, e Valladão et al. (2017), que não encontraram diferença estatística nos parâmetros hematológicos dos peixes alimentados com ração à base de hortelã-pimenta e *tea tree* nas concentrações de 100 e 250 mg/kg em relação ao controle.

Em contrapartida, embora o extrato não afete os parâmetros supracitados, é possível ver que nas concentrações de 3% e 5% há uma interferência mais acentuada na altura das vilosidades intestinais, enquanto o tratamento a 4% de extrato mostrou resultados similares ao Controle, diferentemente de Valladão et al. (2017), que demonstraram que o uso do óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* na concentração de 250mg/kg aumenta a altura das vilosidades de tilápia do Nilo. As concentrações utilizadas do extrato não afetaram as larguras das vilosidades.

6. Conclusão

Com base nos resultados obtidos e discutidos, pode-se concluir que o extrato hidroalcolico é eficiente contra bactérias *S. agalactiae* e *A. hydrophila*, seu uso oral não causa nenhum efeito adverso no desempenho zootécnico nem nos parâmetros hematológicos dos peixes alimentados com ração com concentrações de 3%, 4% e 5% deste produto, mas seu uso

FELIX, I.L. Efeito do extrato etanólico de *Anacardium occidentale* sobre o desempenho...

nas concentrações de 3% e 5% pode afetar a altura das vilosidades intestinais dos animais, enquanto a concentração 4% não afeta o crescimento destas, uma vez que se mostraram estatisticamente iguais aos dos peixes do tratamento controle.

7. Conflito de interesses

Os autores declaram que não há conflito de interesses.

8. Aprovação ética

Este estudo foi conduzido de acordo com os preceitos éticos e de experimentação autorizados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal Rural de Pernambuco/Brasil (nº 6647140921).

9. Agradecimento

Os autores agradecem à Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE) pela bolsa de mestrado concedida ao primeiro autor, através do projeto BCT-0228-5.06/21 "Inovações Tecnológicas para a Piscicultura do Estado de Pernambuco" e pelo financiamento do projeto de pesquisa através do projeto APQ-1182-5.06/21 intitulado como "Efeito *in vitro* e *in vivo* da adição de extrato natural e óleo essencial de *Anacardium occidentale* sobre desempenho zootécnico e prevenção de estreptococose em tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*". Os autores também agradecem ao Centro de Apoio à Pesquisa (CENAPESQ) da UFRPE, pelas análises de cromatografia gasosa.

10. Referências

- ADAMS, R.P., SPARKMAN, O.D. (2007). Review of identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 18: 803–806.
- AKINPELU, D. A. (2001). Antimicrobial activity of *Anacardium occidentale* bark. *Fitoterapia* 72: 286-287.
- ARAUJO, D. M., PEZZATO A. C.; BARROS, M. M., PEZZATO, L. E., NAKAGOME F. K. (2011). Hematology of Nile tilapia fed diets with vegetable oils and stimulated by cold. *Pesq. agropec. bras.*, Brasília, v.46, n.3, p.294-302, mar.
- CHAVES, M. H., CITÓ, A. M. G. L., LOPES, J. A. D., COSTA, D. A., OLIVEIRA, C. A., COSTA, A. F., JÚNIOR, F. E. M. B. (2010). Fenóis totais, atividade antioxidante e constituinte químicos de extratos de *Anacardium occidentale* L., Anacardiaceae. *Brazilian Journal of Pharmacognosy* 20(1): 106-112.
- CHONG, C.M., GANASEH, A.V.S., MURTHY, C.Y. (2020). Phytotherapy in aquaculture: Integration of endogenous application with science. *Journal of Environmental Biology* 41: 1204-1214.
- CITARASU, T. (2010). Herbal biomedicines: A new opportunity for aquaculture industry. *Aquac. Int.* 18: 403–414.
- DAIRIKI, J.K., MAJOLO, C., CHAGAS, E.C., CHAVES, F.C.M., OLIVEIRA, M.R., MORAIS, I.S. (2013). *Procedimento para inclusão de óleos essenciais em rações para peixe*. <http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/100643/1/CircTec-42.pdf>.

- DELPHINO, M. K. V. C., LEAL, C. A. G., GARDNER, I. A., ASSIS, G. B. N., RORIZ, G. D., FERREIRA, F., GONÇALVES, V. S. P. (2019). Seasonal dynamics of bacterial pathogens of Nile tilapia farmed in a Brazilian reservoir. *Aquaculture* 498: 100–108.
- DUARTE, E., MOREIRA, F.C., PEDREIRA, M.M., PIRES, A.V. (2014). Parâmetros físico-químico da água para cultivo de tilápia do Nilo em sistema de biofiltros. *Boletim Técnico PPGZOO UFVJM*, v.2, n°3.
- EL-SAYED, A.F. (2019). *Tilapia Culture*. 2nd Edition. Academic Press, 358p.
- FAO. (2022). *The State of World Fisheries and Aquaculture*. - Meeting the sustainable development goals.
- GELLERMAN, J. L., SCHILENK, H. (1968). Methods for isolation and determination of anacardic acids. *Analytical Chemistry*, v.40, p.739-743.
- HARIKRISHNAN, R., BALASUNDARAM, C., HEO, M.S. (2011). Impact of plant products on innate and adaptive immune system of cultured finfish and shellfish. *Aquaculture* 317:1–15.
- HASLAM, E. (1995). Natural polyphenols (vegetable tannins) as drugs: Possible modes of action. *J Nat Prod* 59: 205-215.
- HIMEJIMA, M.; KUBO, I. 1991. Antibacterial Agents from the Cashew *Anacardium occidentale* (Anacardiaceae) Nut Shell Oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.39, p.418-421.
- IBGE. Produção da Pecuária Municipal (2020). Produção da Pecuária Municipal 2020, Rio de Janeiro, v. 48, 2020. Disponível em: https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/84/ppm_2020_v48_br_info_rmativo.pdf. Acesso em: 08 mar. 2023.
- JORGE, L.I.F., SILVA, G.A., FERRO, V.O. (1996). Diagnose laboratorial dos frutos de *Anacardium occidentale* L. (caju). *Rev Bras Farmacogn* 5: 55-69.
- KUBITZA, F. (2003). *Qualidade da água no cultivo de peixes e camarões*. Piracicaba: Degaspari.
- KUEBUTORNYE, F.K.A., ABARIKE, E. D. (2020). The contribution of medicinal plants to tilapia aquaculture: a review. *Aquaculture International* 28:965–983.
- LAURENS, A., MBOUP, S., GIONO-BARBER, P., DAVID-PRINCE, M. (1992). *Etude de l'action antibacterienne d'extraits d'Anacardium occidentale L*. In *Annales Pharmaceutiques Françaises*. Vol. 40, No. 1, pp. 143-146.
- MCLAFFERTY, F.W., STAUFFER, D.B. (1994). *Registry of Mass Spectral Data*, 6th Electronic Edition, Wiley, New York.
- MONIR, W., ABDEL-RAHMAN, M. A., HASSAN, S. EL-D., MANSOUR, E. S., AWAD, S. M. M. (2020). *Pomegranate peel and moringa*-based diets enhanced biochemical and immune parameters of Nile tilapia against bacterial infection by *Aeromonas hydrophila*. *Microbial Pathogenesis* 145: 104202.
- PADILHA, J. A., VIEIRA, L. N., MAGALHÃES, V. F., REGINATO, R. E. D., LIMA, C. M. B. L., DINIZ, M. F. F. M. (2020). Therapeutic effects of *Anacardium occidentale*: an integrative review. *Acta Brasiliensis* 4(3): 178-186.
- PARASA, L.S., SUNITA, T., RAO, K.B., RAO, A.H., RAO, J.S., KUMAR, L.C.A. (2011). Acetone extract of Cashew (*Anacardium occidentale*, L.) nuts shelliquid against Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) by minimum inhibitory concentration (MIC). *Journal of Chemical and Pharmaceutical*, v. 3, p.736-742.
- PEIXE BR. (2021). *Anuário Peixe BR da Piscicultura*.
- PEREIRA M.O., MORAES A.V., RODHERMEL, J.D., HESS, L., ALVES, A., CHAABAN, A., JATOBÁ. (2020). Supplementation of *Curcuma longa* hydrolate improves immunomodulatory response in Nile tilapia reared in a recirculation aquaculture system. *Arg. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.72, n.5, p.1805-1812. <http://dx.doi.org/10.1590/1678-4162-11811>

- RANZANI-PAIVA, M. J. T., PÁDUA, S.B. De., TAVARES-DIAS, M., EGAMI, M. (2013). *Métodos para análise hematológica em peixes*. 1ª ed., Maringá: Edum, 135 p.
- RICO, A., VAN DEN BRINK, P. J. (2014). Probabilistic risk assessment of veterinary medicines applied to four major aquaculture species produced in Asia. *Science of the Total Environment* 468: 630–641.
- SANTOS, F.O. (2011). Avaliação Antibacteriana do *Anacardium occidentale* (Linn). *Dissertação (Mestrado em Zootecnia)* 17 p. – Sistemas Agrossilvipastoris no Semi-Árido Patos - Universidade Federal de Campina Grande, Paraíba.
- SEIBERT, J. B., BAUTISTA-SILVA, J. P., AMPARO, T. R., PETIT, A., PERVIER, P., ALMEIDA, J. C. S., AZEVEDO, M. C., SILVEIRA, B. M., BRANDÃO, G. C., SOUZA, G. H. B., TEIXEIRA, L. F. M., SANTOS, O. D. H. (2019). Development of propolis nanoemulsion with antioxidant and antimicrobial activity for use as a potential natural preservative. *Food Chemistry*, 287:61–67. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.02.078>
- SILVA, J. G., SOUZA, I. A., HIGINO, J. S., SIQUEIRA-JUNIOR, J. P., PEREIRA, L. V., PEREIRA, M. S. (2007). Atividade antimicrobiana do extrato de *Anacardium occidentale* Linn. em amostras multirresistentes de *Staphylococcus aureus*. *Revista Brasileira de Farmacognosia Brazilian Journal of Pharmacognosy* 17(4): 572-577.
- SILVA, L.T., SOUZA, U., DE PADUA PEREIRA, H.M., DE OLIVEIRA, E.M. BRASIL, S.A., PEREIRA, E. C., CHAGAS, M.L., MARTINS. (2019). Hematoimmunological and zootechnical parameters of Nile tilapia fed essential oil of *Mentha piperita* after challenge with *Streptococcus agalactiae*. *Aquaculture* 506: 205–211.
- SOUZA, N.C., DE OLIVEIRA, J.M., MORRONE, M.D.S., ALBANUS, R.D., AMARANTE, M., CAMILLO, C.D.S. (2017). Antioxidant and anti-inflammatory properties of *Anacardium occidentale* leaf extract. *Evid Based Complement Alternat Med.*:2787308.
- THANIGAIVEL, S., VIJAYAKUMAR, S., GOPINATH, S., MUKHERJEE, A., CHANDRASEKARAN, N., THOMAS, J. (2015). *In vivo* and *in vitro* antimicrobial activity of *Azadirachta indica* (Lin) against *Citrobacter freundii* isolated from naturally infected Tilapia (*Oreochromis mossambicus*). *Aquaculture* 437: 252-255.
- TRABULSI FILHO, F. A., ANDRADE, K. C. S., SILVA, E. C., CASTRO, A. T. O., BATISTA, M. C. A., RIBEIRO, M. N. S., AMARAL, F. M. M. (2013). Estudo de padronização de extratos de *Anacardium occidentale* L. na pesquisa e desenvolvimento de fitoterápicos giardícidias. *Cad. Pesq.* 20: 7-15.
- VALLADÃO, G. M.R., GALLANI, S. U., PALA, G., JESUS, R. B., KOTZENT, S., COSTA, J. C., SILVA, T. F. A., PILARSKI, F. (2017). Practical diets with essential oils of plants activate the complement system and alter the intestinal morphology of Nile tilapia. *Aquaculture Research* 48: 5640–5649.
- VALLEJOS-VIDAL, E., REYES-LÓPEZ, F.E., TELES, M., MACKENZIE, S. (2016). The Response of Fish to Immunostimulant Diets. *Fish Shellfish Immunol* 56:34–69.
- VOSYLIENÉ, M.Z. (1999). The effects of heavy metals on haematological indices of fish (Survey). *Acta Zoologica Lituanica*. v. 9, p.76-82.
- WU, Y., GONG, Q.F., FANG, H., LIANG, W.W., CHEN, M., HE, R.J. (2013). Effect of *Sophora flavescens* on non-specific immune response of tilapia (GIFT *Oreochromis niloticus*) and disease resistance against *Streptococcus agalactiae*. *Fish & Shellfish Immunology* 34:220-227.
- YILDIRIM-AKSOY, M., LIM, C., DAVIS, D.A., SHELBY, R., KLESIUS, P.H. (2007). Influence of dietary lipid sources on the growth performance, immune response and resistance of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, to *Streptococcus iniae* Challenge. *Journal of Applied Aquaculture*, v.19, p.29-49.

FELIX, I.L. Efeito do extrato etanólico de *Anacardium occidentale* sobre o desempenho...

YOUSEFI, M., HOSEINI, S. M., VATNIKOVA Y. A., KULIKOVA, E. V., DRUKOVSKYA S. G. (2019). Rosemary leaf powder improved growth performance, immune and antioxidant parameters, and crowding stress responses in common carp (*Cyprinus carpio*) fingerlings. *Aquaculture*. Volume 505, Páginas 473-480. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.02.07>.
ZAR, J. H. (2013). *Biostatistical Analysis*. Journal of the American Statistical Association.

4. Considerações finais

Tendo em vista o exposto, conclui-se que o extrato hidroalcolólico possui ação antibacteriana contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. Seu uso oral não afeta negativamente os parâmetros zootécnicos nem hematológicos dos peixes alimentados com ração à base deste produto, no entanto, dependendo da dose utilizada, ele pode comprometer a altura das vilosidades intestinais de alevinos de *O. niloticus* alimentados com ração à base deste, por isto, é de suma importância avaliar se a longo prazo o fitoterápico apresentado causar danos mais severos aos peixes.