



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO**

**PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO**

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

**EFEITO DE DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Lippia alba*  
NO DESEMPENHO ZOOTÉCNICO DO *Macrobrachium rosenbergii***

**Eduarda Tayná de Almeida**

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. Dr. EUDES DE SOUZA CORREIA**

Orientador

**Prof. Dra. KARINA RIBEIRO**

Co-Orientadora

**Recife**

**Fevereiro, 2020**

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO**

**PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO**

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

**EFEITO DE DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Lippia alba*  
NO DESEMPENHO ZOOTÉCNICO DO *Macrobrachium rosenbergii*.**

**Eduarda Tayná de Almeida**

Dissertação julgada adequada para  
obtenção do título de mestre em Recursos  
Pesqueiros e Aquicultura. Defendida e  
aprovada em 18/02/2020 pela seguinte  
Banca Examinadora.

---

**Prof. Dr. Eudes de Souza Correia - Orientador**

Departamento de Pesca e Aquicultura  
Universidade Federal Rural de Pernambuco

---

**Profa. Dra. Juliana Ferreira dos Santos – Membro Externo**

Departamento de Pesca e Aquicultura  
Universidade Federal Rural de Pernambuco - UAST

---

**Prof. Dr. Alfredo Olivera Gálvez – Membro Interno**

Departamento de Pesca e Aquicultura  
Universidade Federal Rural de Pernambuco

## **Dedicatória**

*Dedico este trabalho a todos aqueles que me impulsionaram e que estiveram comigo durante esta trajetória.*

## **Agradecimentos**

Agradeço primeiramente a Deus, pelo dom da vida e por estar comigo diante das dificuldades, me dando proteção e forças para poder continuar frente aos obstáculos.

À minha mãe Teluzia por ser a maior incentivadora para minha chegada até aqui. Agradeço também a minha prima Thayane por ter partilhado comigo as angústias e incertezas da vida, de forma que nós duas conseguíssemos ultrapassar os obstáculos para chegar ao resultado final. Também aos meus demais familiares por terem auxiliado de uma forma ou de outra, para que eu chegasse até aqui.

Aos meus orientadores: Eudes Correia por ter acreditado em mim e me dado a oportunidade de estar com ele nesta fase que foi o mestrado. E a Karina Ribeiro, por ter sido sempre mais que uma orientadora, mas uma amiga e segunda mãe que a universidade me deu.

À minha equipe do laboratório da UFRN por terem me dado todo o apoio necessário para execução das minhas pesquisas, pois sem uma boa equipe, nada é possível. Agradeço muito por terem dividido todo o trabalho pesado comigo, mas também pelas risadas e companhia ao longo de todo este percurso. Sem eles, não seria possível realizar tudo sozinha, principalmente pelos obstáculos que apareceram. Obrigada demais a todos vocês: Rosalba, Carlos, Rony, Eulani, Marly, Marília, Giovanna, Kyvia, e Paulo por terem contribuído de alguma forma para o resultado final.

A dois funcionários, do setor, Emerson e Nando por terem contribuído para as estruturas que foram utilizadas na pesquisa, do início ao fim.

As minhas psicólogas por poderem me auxiliar nesta jornada da pós-graduação.

Aos meus amigos de longa data que estiveram comigo todos esses anos partilhando as conquistas e as dificuldades da vida, assim como aqueles com quem fiz amizade e com quem compartilhei algumas cervejas: Beth, Renata, Otávio, Valdemir, Arturene, Alejandro, Marcele e Genison.

Ao Departamento de Pesca e Aquicultura da UFRPE por ter me dado a oportunidade de estar em um programa de pós graduação muito bom além de ter me concedido a oportunidade de conhecer pessoas maravilhosas e que fiz amizade enquanto estive longe de casa.

Por fim, mas não menos importante, a CAPES por ter financiado a minha pesquisa por meio da bolsa para custeio com as despesas.

## **Resumo**

*M. rosenbergii* é o camarão mais usado em projetos de criação de camarão de água doce em todo o mundo. Essa espécie possui algumas características como comportamento agonístico e canibalístico, interações agressivas e dominância hierárquica, características que influenciam a produtividade das culturas devido às densidades de estocagem. O objetivo do trabalho foi avaliar a influência do óleo essencial de *L. alba* na alimentação de animais submetidos a diferentes densidades de estocagem. Juvenis de *M. rosenbergii* foram mantidos em sistema de cultivo nas densidades de 50 e 100 camarões/m<sup>2</sup> alimentados com uma dieta controle e duas dietas experimentais contendo 0,5% e 1% de óleo essencial de *L. alba* por um período de 90 dias. Os resultados obtidos demonstram aumentona taxa de sobrevivência, peso médio e boa condição de bem estar animal para animais alimentados com 0,5% de óleo de *L. alba* na densidade de 50 camarões/m<sup>2</sup> quando comparados a demais tratamentos. Embora a esta densidade seja considerada alta para os camarões do gênero *Macrobrachium*, o óleo essencial proporcionou maior sobrevivência dos animais, sugerindo que as características calmantes do óleo essencial de *Lippia alba* pôde contribuir de forma positiva com o cultivo desta espécie em alta densidade de estocagem.

**Palavras-chave:** Aquicultura; Carcinicultura; Camarão de água doce, Óleo essencial.

**Abstract**

*M. rosenbergii* is the most prawn used in freshwater prawn farming projects worldwide. This species has some characteristics such as agonistic and cannibalistic behavior, aggressive interactions and hierarchical dominance, characteristics that influence the productivity of the crops due to the stocking densities. The main of the present work was evaluate the influence of *L. alba* essential oil on the feeding of animals submitted to different stocking densities (50 and 100prawn/m<sup>2</sup>). The prawns were fed with control diet and a two diet containing 0.5% and 1% of essential oil of *L. alba*. The results show a high survival rate and average weight for animals fed 0.5% *L. alba* oil at a density of 50 prawns/m<sup>2</sup> when compared to other treatments, the same can be observed for length of the antennae that result in a good welfare condition. Although the density of 50 prawn/m<sup>2</sup> is considered high for shrimp of the *Macrobrachium* genus, the essential oil provided greater survival of the animals, suggesting that the calming characteristics of the essential oil of *Lippia alba*, inserted in the diet, could contribute positively with the production of these species in high stocking density.

**Key words:** Aquaculture; Shrimp farming; Freshwater prawn, Essential oil.

**Lista de figuras**

Página

Figura 1 – Ilustração do camarão *M. rosenbergii*.....11

Figura 2 – Optical microscopy of R, F and B digestive cells of the hepatopancreas of *Macrobrachium rosenbergii*: (a) - Photomicrography of the hepatopancreas of animals fed a diet counting 0.5% of OELA (10x) with star-shaped tubules (\*), (b) - Photomicrograph of the hepatopancreas of animals fed a diet counting 1% OELA (40x) showing B cells (\*), R (arrow) and F (arrow head).....28

**Lista de tabelas**

Página

|   |    |
|---|----|
| Table 1 – Ingredients used and proximate diet composition for <i>M. rosenbergii</i> shrimp containing different concentrations of essential oil of <i>L. alba</i> (OELA)..... | 21 |
| Table 2 – Proximate composition of juveniles <i>M. rosenbergii</i> fed a diet containing essential oil of <i>L. alba</i> .....  | 24 |
| Table 3 - Zootechnical performance parameters of <i>M. rosenbergii</i> submitted to experimental diet and different stocking densities.....                                   | 25 |
| Table 4 –Enzymatic activity in hepatopancreas of <i>M. rosenbergii</i> submitted to experimental diet and different stocking densities .....                                  | 26 |



## Sumário

|                                      | Página |
|--------------------------------------|--------|
| Dedicatória.....                     | 03     |
| Agradecimentos.....                  | 04     |
| Resumo.....                          | 05     |
| Abstract.....                        | 06     |
| Lista de figuras.....                | 07     |
| Lista de tabelas.....                | 08     |
| 1 – Introdução.....                  | 10     |
| 2 – Título do Artigo Científico..... | 17     |
| 3 – Considerações finais.....        | 37     |
| 4 – Referências.....                 | 38     |

## 1.1 – Contextualização da pesquisa

### *Histórico da Carcinicultura no Brasil*

Na década de 70 no estado do Rio Grande do Norte, foi implementado o “Projeto Camarão”, visando a criação de camarão em salinas desativadas. Em conjunto com a EMPARN. Nesta época, ocorreu a introdução e adaptação da espécie exótica *Penaeus japonicus* o qual obteve resultados positivos, levando assim a implementação da primeira fazenda nacional com criação de camarão (ARAÚJO, 2003). Entretanto, o ápice da produção de camarão chegou com a introdução de uma outra espécie exótica, que pôde trazer ainda mais resultados para essa área. Segundo Natori et al. (2011), a espécie *Litopenaeus vannamei* acabou substituindo as espécies nativas na produção de camarão em fazendas e tanto a carcinicultura brasileira quanto a mundial tem se caracterizado pelo monocultivo desta espécie de camarão marinho (SANTOS, 2013). Não obstante, o cultivo de espécies de camarão de água doce do gênero *Macrobrachium* sempre se destacou por apresentar baixo impacto ambiental, boa aceitação no mercado e por fornecer um produto de alto valor proteico e excelente qualidade (NEW, 1995; SANTOS, 2013).

A criação do camarão de água doce é importante atividade do ramo da carcinicultura e se enquadra no ramo do agronegócio de vários países (BALLESTER e DUTRA, 2016). Segundo a FAO (2018), a produção mundial de crustáceos tem demonstrado um aumento constante. De 2010 à 2016, a produção foi de 7,862 milhões de toneladas, dos quais 3% (cerca de 234,000 toneladas) é referente ao camarão de água doce, da espécie *Macrobrachium rosenbergii* (De Man, 1879). Sendo assim, o *M. rosenbergii* se mostra uma importante fonte de alimento humano, sendo visto como uma espécie que se adapta tanto as condições de laboratório, quanto de produção (BALLESTER et al., 2017, 2018; COHEN et al., 1981,1983; NEGRINI et al., 2017; VALENTI et al., 1993).

### *Descrição da Espécie*

*Macrobrachium rosenbergii*, é uma espécie nativa da região Indo-Pacífica (Oeste do Indo-Pacífico, do Paquistão ao Vietnã, Filipinas, Nova Guiné e Norte da Austrália). É um crustáceo de água doce onívoro que consome uma grande variedade de plantas e animais, vivos ou em decomposição, e também aceita dietas artificiais balanceadas. Como uma das maiores espécies do gênero *Macrobrachium*, os machos podem atingir um comprimento total de 32 cm e as fêmeas podem chegar a medir até 25 cm (NEW, 2000; BROWN et al., 2010). Durante o período reprodutivo, as fêmeas

ALMEIDA, E. Tayná. Efeito de diferentes concentrações do óleo essencial de *Lippia alba* no desempenho zootéc...  
ovígeras passam a habitar em regiões estuarinas, onde seus ovos são incubados. Após a fase larval, as  
pós-larvas e os primeiros estágios juvenis apresentam baixa tolerância a salinidade, migrando para água  
doce (RA'ANAN e COHEN, 1985).

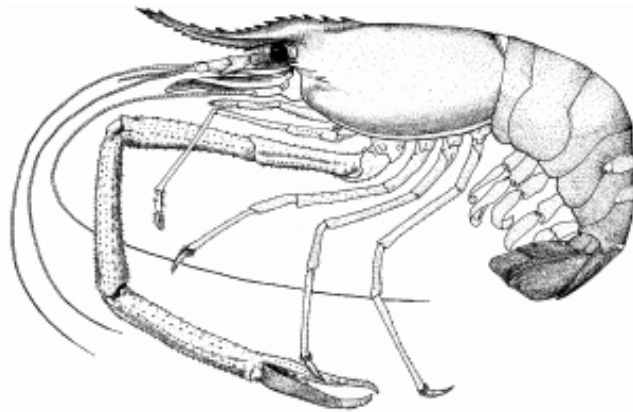


Figura 1. Ilustração do camarão *M. rosenbergii*. Fonte: Internet.

**Subordem: Pleocyemata Burkenroad, 1963**

**Infra-ordem: Caridea Dana, 1852**

**Superfamília: Palaemonoidea Rafinesque, 1815**

**Família: Palaemonidae Rafinesque, 1815**

**Gênero: Macrobrachium Bate, 1868**

**Espécie: Macrobrachium rosenbergii (De Man, 1879)**

Com relação a sua morfologia externa, os camarões apresentam o corpo dividido em duas partes, o cefalotórax e o abdome. Cada uma delas é constituída por somitos providos de extremidades pares, denominadas apêndices. No cefalotórax, no segundo par de pereiópodos, estão localizados os quelípodos que são utilizados como mecanismo de ataque-defesa, o que exemplifica o comportamento agonístico destes animais (PINHEIRO e HEBLING, 1998), onde camarões do gênero *Macrobrachium* se mostram fortemente territorialistas e possuem comportamento de canibalismo, interações agressivas e dominância hierárquica (SEGAL e ROE, 1975), características estas que influenciam na produtividade dos cultivos em função das densidades de estocagem. Outro fator importante é que esses quelípodos são utilizados para etapas de reprodução (corte, manipulação da fêmea, etc.) e apreensão do alimento (PINHEIRO e HEBLING, 1998; NARCHI, 1973; CAVALCANTI et al., 1986).

ALMEIDA, E. Tayná. Efeito de diferentes concentrações do óleo essencial de *Lippia alba* no desempenho zootéc...

Seguindo para morfologia interna desta espécie, podemos apontar alguns sistemas importantes que são considerados para estudo com relação ao melhoramento do desempenho do animal. Como as informações são escassas na literatura com relação à descrição da anatomia interna do *M. rosenbergii*, as informações utilizadas para os sistemas são adaptadas a partir da revisão sobre morfologia interna de crustáceos decápodos realizada por McLaughlin (1983). Entre os sistemas descritos na literatura, está o sistema digestivo que engloba uma série de processos que vai desde a ingestão do alimento seja ele natural ou à base de dietas comerciais, até a excreção dos componentes desta alimentação que não são totalmente aproveitados pelos animais (sistema digestivo completo – boca, esôfago, intestino e abertura anal). O processo de trituração do alimento é realizado externamente pelos apêndices bucais, características peculiares aos carídeos (WINCKINS, 1976). Mas, é no intestino anterior e médio que o alimento sofre ação de secreções enzimáticas como protease, amilase e lipase, onde as enzimas necessárias são sintetizadas pelo órgão extremamente importante, que é o hepatopâncreas, órgão este que é fundamental na absorção e armazenamento de reservas metabólicas, como o glicogênio que é destinado às gônadas na época da reprodução (ADIYODI e ADIYODI, 1970; KYOMO, 1988).

#### *Sistema nervoso dos crustáceos*

O sistema nervoso dos crustáceos decápodos é formado por uma série de gânglios que estão dispostos por todo seguimento corporal do animal, e são ligados a um duplo cordão nervoso ventral. Este cordão nervoso se funde em um único gânglio, o gânglio cerebral, na região cefalotorácica entre os olhos e funciona como um cérebro (RUPPERT et al., 1996). Sobre a superfície dos seus exoesqueletos, os crustáceos apresentam receptores neurais que são chamados de sensilas, e são classificados e divididos como mecanorreceptores, termorreceptores e quimiorreceptores (BRUSCA e BRUSCA, 2007). Para validar a ideia de que esse grupo de animais não sente dor, é tomado como observação que os crustáceos não apresentam um sistema nervoso central composto pelo córtex (ROSE, 2002). No entanto, os diferentes táxons podem exibir estruturas de uma mesma função com propriedades morfologicamente distintas, demonstrando que a capacidade funcional dos sistemas é independente de cada grupo, o que não diminui a capacidade de sensibilidade (DAWKINS, 2012). Desta forma, a mesma noção de dor para crustáceos não é claramente definida como acontece com os seres humanos (ELWOOD, 2011). Os camarões, por exemplo, quando expostos a situações em que se tornam desconfortáveis e demonstram o comportamento descrito como “retirada-e-fuga”, faz com que eles aprendam a evitar eventos semelhantemente traumáticos que aconteceram anteriormente (MAGEE e ELWOOD, 2013; SNEDDON, 2015).

ALMEIDA, E. Tayná. Efeito de diferentes concentrações do óleo essencial de *Lippia alba* no desempenho zootéc...

A avaliação do potencial de “sentir dor” desses animais é, principalmente, vista através do comportamento, visto que apresentam várias características motoras de proteção (BATESON, 1991; SHERWIN, 2001; ELWOOD, 2011; GENTLE, 2011). Além disso, apresentam reações motoras de fricção e autotomia em apêndices machucados (SNEDDON et al., 2014). Contudo, o processo de ação anestésica no sistema nervoso dos crustáceos ainda não pode ser bem definido. Não se sabe se a resposta está ligada a um efeito analgésico, de relaxamento muscular ou sedativo, mas ao que parece, pode estar ligado com o grau de desenvolvimento e a quantidade de sítios ativos de percepção (LEWBART e MOSLEY, 2012).

### *Resposta ao estresse em camarões*

O estresse pode ser definido como uma resposta a um desequilíbrio da homeostase fisiológica do animal. Afim de manter o estado de equilíbrio, são desenvolvidos mecanismos adaptativos de resposta (COYLE et al., 2005). Essas respostas ao estresse em camarões podem ser definidas em primária, secundária e terciária, onde a resposta primária envolve uma maior liberação do hormônio hiperglicêmico (HHc), o que gera as alterações secundárias, onde ocorre a elevação do lactato e da glicose na hemolinfa, além da mobilização da reserva de glicogênio do músculo e das glândulas digestivas (HUBERMAN, 2000; LORENZON et al., 2005; APARICIO-SIMÓN et al., 2010).

O HHc é um neuropeptídeo presente no grupo de neuropeptídeos hormonais, como exemplo o HIG (hormônio da inibição gonadal), e o HIM (hormônio de inibição da muda). Estes três formam a família HHc/HIG/HIM, que são sintetizados no órgão-X/glândula do seio, que se localizam no pedúnculo ocular. O HHc tem como principais funções, a mobilização da reserva energética, reprodução, metabolismo de lipídeos, regulação hidromineral, síntese de hormônios e inibição na produção dos ecdisteróides pelo órgão-Y, o que inibe o processo da muda (WEBSTER, 2015). O HHc também possui efeitos que se apresentam de forma similar ao cortisol atuante em vertebrados, dessa forma, os níveis de glicose da hemolinfa são controlados através da interação entre o HHc e o metabolismo de carboidratos (PRYMACZOK et al., 2016).

### *Comportamento agonístico e territorialista*

Além dos fatores estressores como qualidade do ambiente de cultivo, transporte, altas densidades de estocagem, o comportamento dos animais pode influenciar de forma negativa no desempenho zootécnico, o que resulta em crescimento heterogêneo dos indivíduos. Como citado

ALMEIDA, E. Tayná. Efeito de diferentes concentrações do óleo essencial de *Lippia alba* no desempenho zootéc... anteriormente, os camarões do gênero *Macrobrachium* são fortemente territorialistas e possuem comportamento de canibalismo, interações agressivas e dominância hierárquica (SEGAL e ROE, 1975).

De acordo com Karplus (2005), existem quatro mecanismos sociais que podem ser utilizados para definir o comportamento que regula o crescimento dos indivíduos: competição direta por alimento – onde animais maiores ou mais agressivos podem consumir o alimento de forma mais rápida e impedir o consumo por animais menores; supressão do apetite – apesar de existir uma abundância de alimentos naquele ambiente, os animais menores são inibidos pelos animais dominantes e passam a consumir menos; conversão alimentar diferenciada – os indivíduos menores apresentam uma menor eficiência na taxa de conversão alimentar; e por fim, aumento da atividade locomotora – os indivíduos menores apresentam maior taxa de locomoção para fugir e sobreviver de ataques dos indivíduos dominantes, desta forma, gastam muita energia e tem uma baixa taxa de crescimento. Todos estes fatores citados acabam implicando diretamente nos sistemas de cultivo quando se trata de espécimes do gênero *Macrobrachium*.

#### *Uso do óleo essencial de **Lippia alba** como potencial redutor de estresse*

Conforme ocorre a intensificação na produção e um aumento na procura pelo produto, a busca por uma eficiência alimentar elevada tem promovido o uso de aditivos na ração, que são utilizados para controlar agentes prejudiciais ao processo digestivo e assim proporcionar a melhora dos índices zootécnicos (NUNES et al., 2012). Dentre estes aditivos, temos os antibióticos, quimioterápicos e vacinas, que apresentam elevado custo e podem produzir efeitos certamente indesejáveis como a bioacumulação nos organismos, além da resistência às bactérias (CITARASU, 2010; YU - WEN, 2009; HARIKRISHNAN et al., 2011), sendo portanto, de uso questionável do ponto de vista sanitário (ROSTAGNO et al., 2003). Com isto, o uso de diferentes aditivos naturais, vegetais e herbais vem sendo testados na dieta de animais tanto terrestres, quanto aquáticos (SANTOS et al., 2009). Conhecidos como fitogênicos, estes aditivos estão disponíveis na forma de extratos ou óleos essenciais, possuindo diversos compostos ativos como fenóis, polifenóis, alcalóides, quinonas, terpenóides, lectinas e polipeptídios, estabelecendo-se como uma alternativa eficaz frente aos aditivos convencionais (HARIKRISHNAN et al., 2011). Muitos exemplos de ação benéfica têm sido propostos para estes aditivos, os quais podem alterar algumas características dos organismos, como a estrutura intestinal, modulação à resposta imune inata e adaptativa, aumento da resistência ao estresse, além de afetar diretamente o desenvolvimento de organismos patogênicos, reduzindo assim, sua capacidade de colonizar o trato digestivo e evitar os distúrbios que afetam a digestão e a absorção de nutrientes

ALMEIDA, E. Tayná. Efeito de diferentes concentrações do óleo essencial de *Lippia alba* no desempenho zootéc... (MELLOR, 2000; SANTIN et al., 2001; STEINER e ENCARNAÇÃO, 2010; HARIKRISHNAN et al., 2011).

Dentre os diversos tipos de óleos essenciais disponíveis no mercado, temos o óleo da planta cientificamente conhecida como *Lippia alba*, que tem se mostrado como um bom aditivo com relação a minimização do estresse em organismos aquáticos, sendo indicado como anestésico para duas espécies de peixes: o bagre prateado *Rhamdia quelen* (CUNHA et al., 2010) e o cavalo-marinho *Hippocampus reidi* (CUNHA et al., 2011). O mesmo óleo essencial melhorou também a qualidade da água de transporte para peixes, além de parâmetros fisiológicos e bioquímicos, e também de resposta antioxidante a alguns organismos aquáticos (AZAMBUJA et al., 2011; PARODI et al., 2012; BECKER et al., 2012, 2016; TONI et al., 2014; HOHLENWERGER et al., 2016, 2017; SALBEGO et al., 2017; SIMÕES et al., 2017; SOUZA et al., 2018).

A *Lippia alba* pertence à família verbanacea que incluem outras plantas, assim como diversos tipos de medicamentos. Esta planta é abundantemente presente entre o sul dos Estados Unidos, mais precisamente na Flórida, e o norte da Argentina. Também se encontra presente na Índia (SINGH et al., 2000) e Austrália (DAY e Mc ANDREW, 2003). Diversos são os nomes utilizados na América Latina, devido à disseminação desta espécie, assim como a diversidade de usos medicinais aplicados a mesma, sendo cidreira o nome mais comum utilizado no Brasil. Algumas espécies do gênero *Lippia* apresentam ações sedativas, já que contém componentes fenólicos (flavonoides) que são utilizados como substâncias ativas (PASCUAL et al., 2001). A *Lippia alba* tem sido utilizada como um sedativo na medicina popular, e certamente, alguns componentes dessa planta produzem um efeito relaxante, ansiolítico ou sedativo (VALE et al., 1999; 2002; ZÉTOLA et al., 2002).

## 1.2- Objetivos do trabalho

### **Objetivo Geral**

Avaliar o efeito do óleo essencial de *Lippia alba* no crescimento de juvenis do camarão *Macrobrachium rosenbergii* em diferentes densidades de estocagem.

### **Objetivos Específicos**

- Avaliar o desempenho zootécnico dos juvenis do *M. rosenbergii* alimentados com dieta contendo óleo essencial de *L. alba*.
- Observar a histologia e quantificar a atividade enzimática dos juvenis de *M. rosenbergii* alimentados com dietas contendo óleo essencial de *L. alba*.
- Definir qual a concentração mais adequada do óleo essencial de *L. alba* para o *M. rosenbergii*.



ALMEIDA, E. Tayná. Efeito de diferentes concentrações do óleo essencial de *Lippia alba* no desempenho zootéc...  
2 – Artigo Científico

Zotechnical performance and analysis of hepatopancreas in juvenile *Macrobrachium rosenbergii* fed with diet containing different concentrations of the essential oil of *Lippia alba*.

Artigo científico a ser submetido à Revista: Aquaculture -  
<https://www.journals.elsevier.com/aquaculture> - ISSN ,  
0044-8486 (versão on-line).



ISSN: 0044-8486

Todas as normas de redação e citação, deste capítulo, atendem as normas estabelecidas pela referida revista.

ALMEIDA, E. Tayná. Efeito de diferentes concentrações do óleo essencial de *Lippia alba* no desempenho zootéc ...  
1 Zootechnical performance and analysis of hepatopancreas in juvenile *Macrobrachium rosenbergii* fed  
2 with diet containing different concentrations of the essential oil of *Lippia alba*.

3  
4 Eduarda Tayná de Almeida<sup>a</sup>, Karina Ribeiro<sup>b,\*</sup>, Carlos Henrique do Nascimento<sup>b</sup>, Thiago Barbosa  
5 Cahú<sup>c</sup>, Eudes de Souza Correia<sup>a</sup>.

6  
7 <sup>a</sup>Departamento de Pesca e Aquicultura, Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Rua  
8 Dom Manoel de Medeiros, s/n, Dois irmãos, CEP: 52171-900, Recife, PE, Brazil.

9 <sup>b</sup>Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN), Unidade Acadêmica Especializada em  
10 Ciências Agrárias Escola Agrícola de Jundiaí, RN 160 KM 3, s/n, CEP: 59280-000 Macaíba, RN,  
11 Brazil

12 <sup>c</sup>Laboratório de Enzimologia (LABENZ), Departamento de Bioquímica, Universidade Federal de  
13 Pernambuco (UFPE), Av. Prof. Moraes Rego, 1235, Cidade Universitária, CEP: 50670-901 Recife,  
14 PE, Brazil

15 \*Corresponding author: e-mail - [ribeiro\\_k@hotmail.com](mailto:ribeiro_k@hotmail.com) / cellphone: +55 84 99952-7100

## 16 17 **Abstract**

18 The work evaluated the influence of the essential oil of *Lippia alba* (OELA) on the zootechnical  
19 potential and effect on the hepatopancreas of freshwater shrimp, *Macrobrachium rosenbergii*, grown  
20 in different stocking densities. Juveniles were kept for 70 days in two different stocking densities 50  
21 and 100 shrimp/ m<sup>2</sup> and received three different experimental diets containing 0%, 0.5% and 1% OELA  
22 inclusion. The results show an increase in the survival rate, average weight and improvement in animal  
23 welfare when fed with 0.5% *L. alba* oil at a density of 50 shrimp/ m<sup>2</sup>. Although this stocking density  
24 of 50 shrimp/ m<sup>2</sup> is high, for shrimp of the genus *Macrobrachium*, the insertion of essential oil in the  
25 diet provided greater survival for the animals, suggesting that the calming characteristics of the  
26 essential oil of *Lippia alba*, contributed to positively with the cultivation of this species in high stocking  
27 density.

28  
29 **Keywords:** Shrimp farming; Stocking density; Agonistic behavior; Essential oil; Food additives.

## 30 31 **Resumo**

32 O trabalho avaliou a influência do óleo essencial de *Lippia alba* (OELA) no potencial zootécnico  
33 e efeito no hepatopâncreas do camarão de água doce, *Macrobrachium rosenbergii*, cultivados em  
34 diferentes densidades de estocagem. Juvenis foram mantidos por um período de 70 dias em duas  
35 diferentes densidades de estocagem 50 e 100 camarões/ m<sup>2</sup> e receberam três diferentes dietas  
36 experimentais contendo 0%, 0,5% e 1% de inclusão de OELA. Os resultados demonstram aumento na

ALMEIDA, E. Tayná. Efeito de diferentes concentrações do óleo essencial de *Lippia alba* no desempenho zootéc...  
37 taxa de sobrevivência, peso médio e melhora no bem estar animal quando alimentados com 0,5% de  
38 óleo de *L. alba* a uma densidade de 50 camarões/ m<sup>2</sup>. Embora esta densidade de estocagem de 50  
39 camarões/ m<sup>2</sup> seja considerada alta, para os camarões do gênero *Macrobrachium*, a inserção do óleo  
40 essencial, à dieta, proporcionou maior sobrevivência dos animais, sugerindo que as características  
41 calmantes do óleo essencial de *Lippia alba*, contribuiu de forma positiva com o cultivo desta espécie  
42 em alta densidade de estocagem.

43  
44 **Palavras-chave:** Carcinicultura; Densidade de estocagem; Comportamento agonístico; Óleo essencial;  
45 Aditivos alimentares.

## 46 47 **1. Introduction**

48 *Macrobrachium rosenbergii* it is the most cultivated freshwater decapod crustacean in the world,  
49 presenting a growing world production in recent years (FAO, 2018), thus being a product of great  
50 commercial importance for the productive sector. However, this species has heterogeneous growth,  
51 which affects yield and product value. This difference in growth may link to stress arising from  
52 agonistic behavior, which trigger cannibalism, aggressive interactions and hierarchical dominance  
53 (Segal and Roe, 1975; Sagi and Ra'anana, 1988; Ballester et al., 2017). Despite the territorial and  
54 aggressive behavior, research points to the possibility of intensifying freshwater shrimp farming,  
55 making it necessary to minimize stress to promote animal welfare (Kimpara et al., 2013; Ballester et  
56 al., 2017).

57 Besides the high storage densities in production systems, repetitive handling during biometrics,  
58 hemolymph collections and ablation in breeding females, are actions that enhance stress and cause the  
59 death of individuals (Walker and Mohan, 2009; Mercier et al., 2009; Zhou et al., 2010; Ferreira et al.,  
60 2011). Thus, the use of anesthetics in aquaculture is an alternative to minimize this problem, being of  
61 great importance to assess the physical state of the animal, the ease of handling, the damage it can  
62 cause when being handled and the amount to be spent (Cho and Heath, 2000).

63 Conventional chemical anesthetics it classified as additives used to reverse the effect of some  
64 harmful factor for production. But, besides having a high cost, they also have undesirable effects such  
65 as bioaccumulation in organisms, and are therefore of questionable use from the health point of view  
66 (Albino et al., 2006; Citarasu, 2010; Harikrishnan et al., 2011). Using different natural additives, such  
67 as essential oils extracted from plants, tested in animal diets, both terrestrial and aquatic (Santos et al.,  
68 2009). Among the different types of essential oils available on the market, we have *Lippia alba*, this  
69 genus includes approximately 200 species of plants, which are mainly distributed in Central America,  
70 South America and tropical Africa (Terblanche and Kornelius, 1996) and is a sedative within popular  
71 medicine, where some constituents of the oil of this species such as citral, carvone, and linalool (Tavares

ALMEIDA, E. Tayná. Efeito de diferentes concentrações do óleo essencial de *Lippia alba* no desempenho zootéc...  
72 et al., 2005), produce anxiolytics and motor sedatives with relaxing effects seen in tests for mice (Vale  
73 et al., 1999; 2002; Zétola et al., 2002). Authors have shown this product to be a good additive regarding  
74 minimizing stress in aquatic organisms, being showed as anesthetic for fish such as silver catfish  
75 *Rhamdia quelen* (Cunha et al., 2010), and the sea horse *Hippocampus reidi* (Cunha et al., 2011). Thus,  
76 the aim of the study was to evaluate the zootechnical performance and hepatopancreas of the  
77 *Macrobrachium rosenbergii* grown in high stocking densities and fed diets containing different  
78 concentrations of essential oil of *Lippia alba*.

## 80 **2. Material and methods**

### 81 *2.1. Location and experimental design*

82 The experiment took place at the Laboratory of Research, Teaching and Extension in Shrimp -  
83 LAPEC, of the Agricultural School of Jundiáí of the Federal University of Rio Grande do Norte. Post-  
84 larvae, recently metamorphosed from *Macrobrachium rosenbergii* were acquired in commercial  
85 larviculture Acquamarão, and transported to LAPEC, and acclimated in a 12 m<sup>3</sup> tank, containing  
86 aeration and maintained for 25 days until the beginning of the experiment. During this period, we fed  
87 animals with a commercial diet of 55% crude protein, 20% of biomass, eight times a day for 24 hours  
88 with the aid of automatic feeders.

89 After the acclimatization period, the animals with an average weight of  $0.34 \pm 0.02$  g and an  
90 average total length of  $4.72 \pm 0.59$  cm (tip of the rostrum to the end of the tail) were transferred and  
91 acclimated in 18 polyethylene boxes, with a volume of 250 L and divided into six completely  
92 randomized treatments, in a 2 x 3 factorial scheme, being distributed in two stocking densities with 50  
93 and 100 shrimps/ m<sup>2</sup>, which would receive diets containing three levels of inclusion of essential oil of  
94 *L. alba* (0%, 0.5% and 1%), each treatment with three replicates. The cultivation time was 70 days and  
95 during this period the animals were fed four times a day: 08:00, 11:00, 14:00 and 16:00 h. The diets  
96 initially supplied at 10% of the total biomass of each experimental unit, and throughout the experiment,  
97 being reduced to 6% of the biomass. We measured water quality variables daily for temperature and  
98 dissolved oxygen (portable digital oximeter with Data Logger MO-900 from Instrutherm) and weekly  
99 for pH, nitrogen compounds (Hanna Instruments) and total alkalinity and hardness (APHA, 1985).

### 101 *2.2. Experimental diet.*

102 Three experimental diets containing different concentrations of the essential oil of *Lippia alba*,  
103 control diet with 0%, diet with 0.5% and 1.0% of inclusion of essential oil. The diets were formulated  
104 and adapted from diets used for the genus *Macrobrachium* (Ribeiro et al., 2011; Souza et al., 2018;  
105 Cagol et al., 2020).

106 The dry ingredients were mixed and passed through an industrial mill to homogenize the size of  
 107 the grains and the mixture. Subsequently, we separated dry mixture into three portions to add moist  
 108 ingredients such as water, molasses, corn oil and the essential oil. In this way, the different treatments  
 109 were obtained from the replacement of part of the corn oil by the commercial oil of *Lippi alba* (Table  
 110 1). The treatments were separately homogenized in a commercial mixer and passed through a pelletizer  
 111 to make 3 mm pellets that were dried in an industrial oven at 45 °C for 24 h, accommodated in plastic  
 112 bags, properly identified, and stored in a freezer -20 °C. The proximal analysis of the diet ingredients  
 113 was performed following AOAC standards (2016) (Table 1).

114

115

116 Table 1 - Ingredients used and proximate diet composition for *M. rosenbergii* shrimp containing  
 117 different concentrations of essential oil of *L. alba* (OELA).

| Ingredients (%)               | Diets                   |                         |                         |
|-------------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
|                               | Control                 | OELA 0.5%               | OELA 1%                 |
| Soybean meal                  | 30                      | 30                      | 30                      |
| Wheat flour                   | 24                      | 24                      | 24                      |
| Corn flour                    | 16                      | 16                      | 16                      |
| Fish meal                     | 23                      | 23                      | 23                      |
| Corn oil                      | 2                       | 1.5                     | 1                       |
| Premix                        | 3                       | 3                       | 3                       |
| Molasses                      | 2                       | 2                       | 2                       |
| OELA                          | 0                       | 0.5                     | 1                       |
| Total (%)                     | 100                     | 100                     | 100                     |
| <b>Centesimal composition</b> |                         |                         |                         |
| CP (%)                        | 32.93±0.27 <sup>a</sup> | 32.84±0.22 <sup>a</sup> | 32.84±0.31 <sup>a</sup> |
| CHO (%)                       | 43.15±0.74 <sup>a</sup> | 44.74±0.70 <sup>a</sup> | 46.14±2.25 <sup>a</sup> |
| FB (%)                        | 3.51±0.42 <sup>a</sup>  | 3.81±0.34 <sup>a</sup>  | 3.89±0.26 <sup>a</sup>  |
| DM (%)                        | 94.75±0.03 <sup>a</sup> | 94.37±0.06 <sup>b</sup> | 93.53±0.12 <sup>c</sup> |
| Moisture (%)                  | 5.25±0.03 <sup>c</sup>  | 5.63±0.06 <sup>b</sup>  | 6.47±0.12 <sup>a</sup>  |
| MM (%)                        | 15.88±0.21 <sup>a</sup> | 14.95±0.20 <sup>a</sup> | 14.20±1.97 <sup>a</sup> |
| LP (%)                        | 8.04±0.32 <sup>a</sup>  | 7.47±0.44 <sup>ab</sup> | 6.82±0.22 <sup>b</sup>  |

118 Means ± standard deviation presented for each type of feed analyzed, with the following  
 119 abbreviations: CP - Crude protein; CHO - Total carbohydrates; FB - Fibers; DM - Dry matter; MM -  
 120 Mineral matter; LP - Lipids. Lines with different letters, demonstrate that there was a significant  
 121 difference for analysis of variance, ANOVA one-way (p <0.05).

122

123 The diet provided proved to be isoproteic, however, despite the dry matter (DM) moisture and  
 124 lipids (LP) differ significantly, the results show that the diet was within the ideal parameters for the  
 125 feed of shrimp *M. rosenbergii* (Freuchtenicht, 1987; D'abramo and New, 2010).

126

127 2.3. *Zootechnical performance.*

128 During cultivation, biometrics were performed every 15 days to monitor the development of the  
129 shrimp. At the end of the experiment, the animals were measured, weighed and counted to use the data  
130 and to evaluate the zootechnical performance of these animals. Among the analyzed parameters were,  
131 Survival (%), Biomass Gain (g), Total Length (cm), Tail Length (cm), Cephalothorax Length (cm),  
132 Antenna Length (cm), Specific Growth Rate (%) and Feed Conversion Factor (g). From the following  
133 formulas:

134

135 - Biomass Gain (BG; g) =  $B_f - B_i$ , where  $B_f$  is the final biomass and  $B_i$  is the initial biomass.

136 - Survival (S; %) =  $(N_f / N_i) \times 100$ , where  $N_f$  represents the number of animals surviving and  $N_i$   
137 represents the number of animals at the beginning of the experiment.

138 - Specific Growth Rate, expressed as a percentage per day (SGR, %/Day<sup>-1</sup>) =  $((\ln MP_f - \ln MP_i) / t) \times 100$ ,  
139 where  $\ln$  is the Neperian logarithm,  $MP_f$  and  $MP_i$  are the averages of final and initial weight  
140 (g), respectively, and  $t$  indicates the number of days of experiment.

141 - Feed Conversion Factor (FCF) =  $AFP \text{ (Kg)} / TWG \text{ (Kg)}$ , where  $AFP$  represents the amount of  
142 feed provided and  $TWG$  represents the total weight gain of the animals.

143

144 2.4. *Enzyme analysis*

145 At the end of the experiment, the animals were sacrificed by thermal shock in an ice bath,  
146 counted, weighed and measured individually. The hepatopancreas were collected, in which a sample  
147 with a 0.5 g pool of the organ, from each repetition of the treatments, was frozen in an ultra-freezer at  
148 -80 °C to carry out the enzymatic analyzes.

149 For the analysis of the enzymes, we placed the pool of frozen hepatopancreas on dry ice and sent  
150 to the UFPE - Labenz Enzymology Laboratory where they were processed and the activities of total  
151 and specific alkaline proteases (trypsin and chymotrypsin), lipase and amylase. Therefore, the  
152 hepatopancreas were homogenized in 1 mL<sup>-1</sup> of a buffer solution composed of 0.01 M Tris-HCl, pH  
153 8.0, with 0.9% NaCl, to get a concentration of 1: 5. Subsequently centrifuged at 9.000 g for 10 min at  
154 4 °C to separate insoluble particles. The supernatant (crude extract) was collected and stored in a freezer  
155 at -20 °C to carry out enzymatic analyzes. The concentration of soluble proteins was determined using  
156 the Bradford method (1976) using bovine serum albumin to construct a standard curve. Enzymatic  
157 assays took place to determine the total and specific proteolytic activity, using 1% azocasein reagents  
158 (Leighton et al., 1973; Alencar et al., 2003), BapNa 8 mM (Trypsin) (Erlanger et al., 1961), and SapNa  
159 8 mM (chymotrypsin), respectively; 8 mM p-nitrophenyl palmitate for determination of lipase in 0.05  
160 M Tris-HCl buffer, pH 8.0 (Aryee et al., 2007); and 2% of starch for determination of total amylase in  
161 0.1 M Tris-HCl buffer, pH 8.0 (Bernfeld, 1955). The assay analyzes were performed in microplate and

ALMEIDA, E. Tayná. Efeito de diferentes concentrações do óleo essencial de *Lippia alba* no desempenho zootéc...  
162 in triplicates, and, after the incubation time, and read in a BioRad XMark spectrophotometer. All trials  
163 followed a methodological approach adapted by Bezerra et al. (2005) according to authors like  
164 Bradford (1976), Alencar et al. (2003); Gaxiola et al. (2005), and Van Wormhoudt, et al. (1980). The  
165 enzymatic activity will be expressed as the amount of enzyme capable of hydrolyzing 1 micromol of  
166 substrate per minute.

167

## 168 2.5. *Histological analysis*

169 Five animals separated from each group had its hepatopancreas collected and fixed in a 10%  
170 BOUIN solution for histological analysis. The hepatopancreas were individually weighed for such  
171 analysis to get the hepatosomatic index (HI) defined on the correlation between the organ's weight and  
172 the animal's body weight, calculated as in the formula below:

173

$$174 \quad HI = (\text{Hepatopancreas weight} / \text{Body weight}) \times 100$$

175

176 In the histology process, the hepatopancreas were fixed for 24 h in 10% BOUIN solution, then  
177 washed and kept in 70% alcohol until they passed through the histological routine, in which the organs  
178 were dehydrated in a growing series of alcohol, diaphanized in xylol and embedded in paraffin.  
179 Subsequently, the blocks were thinned and cut to a thickness of 5  $\mu\text{m}$ , to assemble the histological  
180 slides that were stained in Hematoxylin and Eosin (H/ E). These slides were then analyzed under an  
181 optical microscope and photographed.

182

## 183 2.6. *Statistical analysis.*

184 The samples were checked for normality and homogeneity tests before all analyzes. For data on  
185 zootechnical performance, water quality, proximate composition of the shrimp and enzymatic profile,  
186 Shapiro-Wilk and Cochran's test were used, respectively, and then a two-factor analysis of variance  
187 was performed, followed by Duncan's means comparison test. ( $p < 0.05$ ).

188 For data on centesimal composition of the ration, normality and homogeneity were analyzed in  
189 the Shapiro-Wilk and Levene tests, respectively, and then a one-way analysis of variance was  
190 performed, followed by comparison of Tukey's means ( $p < 0.05$ ). All analyzes were performed using  
191 the Statistica 12 software.

192

## 193 **3. Results and discussion**

### 194 3.1. *Water quality*

195 The water quality variables were similar in all experimental units and, therefore, considered equal  
196 for all cultivation units. The temperature and dissolved oxygen showed an average value of  $27.42 \pm$

ALMEIDA, E. Tayná. Efeito de diferentes concentrações do óleo essencial de *Lippia alba* no desempenho zootéc...  
 197 0.73 °C and  $6.68 \pm 0.08 \text{ mg.L}^{-1}$ , respectively, pH  $7.5 \pm 0.5$ , toxic ammonia and nitrite being maintained  
 198 in  $0.002 \pm 0.008$  and  $0.004 \pm 0.00$ , respectively, total hardness of  $91.82 \pm 18.15 \text{ mg.L}^{-1} \text{ CaCO}_3$  and  
 199 average alkalinity of  $50.1 \pm 8.00 \text{ mg.L}^{-1} \text{ CaCO}_3$ , and all parameters analyzed were within acceptable  
 200 standards for the cultivation of the species (Zimmermann, 1998), and did not influence the performance  
 201 of animals during cultivation.

202

### 203 3.2. Centesimal composition

204 Some factors influence the centesimal composition of the fish, such as food, age, weight, seasonal  
 205 variation, physiological phase (Shearer, 1994), and the different regions of the body (Contreras-  
 206 guzmán, 1994). In the present work the proximate composition of the prawns we observed a high crude  
 207 protein content for the density factor for the treatment R - 0.5% at the density of 100 animals/  $\text{m}^2$  ( $p >$   
 208 0.05), (Table 2) proving to be superior to the results found in the literature for the same species  
 209 Kirschnik et al. (2006) and Furuya et al. (2006). The humidity indexes corroborate with works carried  
 210 out by Santos et al. (2007) for the same species, since humidity is a limiting factor for the shelf life of  
 211 the fish, changing the product's odor, flavor and softness (Sivertsvik et al., 2002; Furlan and Torres,  
 212 2010), high humidity values can imply the quality of the end product. However, the values observed  
 213 in the present study corroborate the literature for *M. rosebergii* (Furuya et al., 2006).

214

215 Table 2 - Proximate composition of juveniles *M. rosebergii* fed a diet containing essential oil of *L.*  
 216 *alba*.

| Composition | Treatments                |            |            |                            |            |            | ANOVA (P values) |    |       |
|-------------|---------------------------|------------|------------|----------------------------|------------|------------|------------------|----|-------|
|             | 50 shrimps / $\text{m}^2$ |            |            | 100 shrimps / $\text{m}^2$ |            |            | D                | R  | D x R |
|             | 0%                        | 0.5%       | 1%         | 0%                         | 0.5%       | 1%         |                  |    |       |
| CP          | 54.42±0.38                | 53.19±0.22 | 54.06±1.08 | 54.48±1.00                 | 55.73±0.50 | 54.85±1.30 | *                | NS | NS    |
| CHO         | 19.08±0.38                | 19.19±0.38 | 19.14±1.96 | 18.89±0.49                 | 19.86±0.53 | 19.68±1.00 | NS               | NS | NS    |
| DM          | 28.33±0.30                | 27.07±0.06 | 26.86±0.06 | 26.55±0.21                 | 26.42±0.10 | 27.79±0.10 | *                | *  | *     |
| Moisture    | 71.67±0.30                | 72.93±0.06 | 73.13±0.05 | 73.45±0.21                 | 73.58±0.10 | 72.21±0.10 | *                | *  | *     |
| MM          | 15.72±0.78                | 15.71±0.31 | 14.71±0.76 | 15.49±0.53                 | 15.44±0.38 | 16.34±0.27 | NS               | NS | *     |
| EE          | 10.78±0.09                | 11.91±0.56 | 12.25±0.84 | 11.15±0.32                 | 8.97±0.59  | 9.13±0.13  | *                | NS | *     |

217 Means  $\pm$  standard deviation presented for each type of feed analyzed, with the following abbreviations:  
 218 CP - Crude protein; CHO - Total carbohydrates; DM - Dry matter; MM - Mineral matter; EE - Ethereal  
 219 extract. Variables with NS - Not significant, or with \* show a significant difference for analysis of  
 220 bifactorial ANOVA variance ( $p < 0.05$ ) between the variables evaluated between treatments.

221

222 According to Croos et al. (2005), lipid levels may vary according to some factors, such as place  
 223 of capture, size and age of the individual, among others. The present study shows values of 8.97-



224 12.25% of lipids, which differs from 2.4%, which was found in shrimp *L. vannamei* (Guimarães-Lopes,  
 225 2006). These values may have been higher because the animals were processed whole, where  
 226 Bragagnolo and Rodrigues-Amaya (1997) stated that there is a difference between the centesimal  
 227 composition of the meat and the whole animal, because the stored fat in the hepatopancreas that  
 228 remains in the shrimp's cephalothorax.

229 The low concentrations of lipids found for shrimp at a density of 100 shrimps/ m<sup>2</sup> suggests that  
 230 the animal had a sped up metabolism because of its agonistic behavior, thus inferring the need for  
 231 energy expenditure for the maintenance and growth of the animals.

232

### 233 3.3. Zootechnical performance

234 It is known that shrimps of the genus *Macrobrachium* have an aggressive behavior, being  
 235 territorial and, in this sense, crops with high stocking densities can present problems both in performing  
 236 the animals and in survival (Segal and Roe, 1975; New et al., 2010). However, in the present work, the  
 237 density factor showed good results for final average weight (FAW), biomass gain (BG), specific growth  
 238 rate (SGR), tail length and antenna length in the treatment with 50 shrimps/ m<sup>2</sup>, when compared to the  
 239 other treatments (p <0.05). Works carried out with the same species grown in super intensive systems  
 240 with 150 shrimps/ m<sup>2</sup> (Ballester et al., 2017) show that survival, TCE and GB was lower than the results  
 241 got in the present study for density of 50 shrimps/ m<sup>2</sup>, in which the animals received diets containing  
 242 0.5% of OELA. This treatment was also satisfactory for hepatosomatic index (HI), FCF and total  
 243 length, suggesting that OELA favored the good zootechnical performance of the animals (Table 3).

244

245 Table 3 - Zootechnical performance parameters of *M. rosenbergii* submitted to experimental diet and  
 246 different stocking densities.

| Variables  | Treatments                 |          |          |                             |          |          | ANOVA (P values) |   |       |
|------------|----------------------------|----------|----------|-----------------------------|----------|----------|------------------|---|-------|
|            | 50 shrimps/ m <sup>2</sup> |          |          | 100 shrimps/ m <sup>2</sup> |          |          | D                | R | D x R |
|            | R – 0%                     | R – 0.5% | R – 1%   | R – 0%                      | R – 0.5% | R – 1%   |                  |   |       |
| FCF (g)    | 2.53±0.1                   | 2.77±0.1 | 2.43±0.4 | 2.25±0.0                    | 2.09±0.0 | 2.19±0.1 |                  | N |       |
|            | 5                          | 5        | 0        | 6                           | 5        | 2        | *                | S | NS    |
| BG (g)     | 2.18±0.1                   | 2.42±0.1 | 2.44±0.2 | 1.90±0.0                    | 1.74±0.0 | 1.84±0.1 |                  | N |       |
|            | 5                          | 5        | 6        | 6                           | 5        | 2        | *                | S | NS    |
| Survival % | 85.00±5.                   | 99.00±1. | 84.66±2. | 84.66±2.                    | 90.00±5. | 88.16±1. |                  |   |       |
|            | 00                         | 00       | 52       | 52                          | 00       | 61       | NS               | * | *     |
| SGR %      | 2.83±0.0                   | 2.84±0.1 | 2.75±0.2 | 2.66±0.0                    | 2.66±0.2 | 2.62±0.0 |                  | N |       |
|            | 9                          | 3        | 5        | 4                           | 0        | 8        | *                | S | NS    |
| FCF        | 3.01±0.2                   | 2.43±0.1 | 3.00±0.3 | 3.33±0.0                    | 3.48±0.1 | 3.04±0.2 |                  | N |       |
|            | 9                          | 5        | 7        | 8                           | 0        | 3        | *                | S | *     |
| HI %       | 5.39±0.1                   | 6.08±0.3 | 5.65±0.0 | 5.19±0.0                    | 5.15±0.2 | 5.04±0.2 |                  |   |       |
|            | 5                          | 3        | 8        | 6                           | 1        | 6        | *                | * | *     |

ALMEIDA, E. Tayná. Efeito de diferentes concentrações do óleo essencial de *Lippia alba* no desempenho zootéc...

|    |          |          |          |          |          |          |    |   |    |
|----|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----|---|----|
|    | 6.31±0.1 | 6.11±0.1 | 6.56±0.2 | 6.12±0.1 | 5.96±0.1 | 5.67±0.1 | N  |   |    |
| TL | 5        | 0        | 7        | 2        | 4        | 6        | *  | S | *  |
|    | 1.42±0.0 | 1.55±0.1 | 1.44±0.1 | 1.45±0.0 | 1.43±0.0 | 1.58±0.0 | N  |   |    |
| CL | 4        | 8        | 1        | 5        | 8        | 9        | NS | S | NS |
|    | 3.20±0.0 | 3.23±0.1 | 3.44±0.1 | 3.07±0.0 | 3.12±0.1 | 3.00±0.1 | N  |   |    |
| TL | 8        | 3        | 6        | 9        | 1        | 3        | *  | S | NS |
|    | 5.80±0.3 | 6.04±0.1 | 6.12±0.2 | 4.92±0.2 | 5.56±0.3 | 5.19±0.3 | N  |   |    |
| AL | 1        | 9        | 7        | 4        | 3        | 8        | *  | S | NS |

247 Averages and standard deviation of the values distributed by treatments, with the following  
 248 abbreviations and units: Final average weight (FAW - g); Biomass gain (BG - g); Survival (%); Specific  
 249 growth rate (SGR - % day<sup>-1</sup>); Feed conversion factor (FCF); Hepatosomatic index (HI - %); Total length  
 250 (TL - cm); Cephalothorax length (CL - cm); Tail length (TL - cm) and Antenna length (AL- cm). Result  
 251 of bifactorial analysis of variance (ANOVA - bifactorial), representing factor 1, D - stocking density  
 252 (50 and 100 shrimps/ m<sup>2</sup>), factor 2, R - ration (0, 0.5 and 1%), and the interaction between factors by  
 253 D x R.

254

255 Animal welfare aims to characterize the quality of life of animals and develop strategies that  
 256 allow their increase when they are under the responsibility of humans, in cultivation systems (Oliveira  
 257 and Galhardo, 2007). In this way, we have significant results in the total length and length of the tail  
 258 showing that the cultivation promoted the welfare of the animals because of a better use of the energy  
 259 directed to the growth both in its total length, and in the tail's length that presents about 51% of the  
 260 total value. Both factors are important for the production and commercialization of this shrimp, where  
 261 the tail is more valued for the processing industry (Mól and Aldatz, 2014), inferring that the insertion  
 262 of 0.5% of OELA in the diet contributed to a better adaptation in the cultivation. Some studies with  
 263 essential oils corroborate the present work because they show an improvement in the growth of the  
 264 animals. Dietary supplementation is reported in the literature, based on herbal materials extracted from  
 265 plants, provided for fish, marine shrimp and freshwater in unique perspectives, such as growth,  
 266 antioxidant status, immune response and survival rate (Asadi et al., 2018; Francis et al., 2002;  
 267 Immanuel et al., 2004; Ji et al., 2007; Liu et al., 2010; Saccol et al., 2013; Vaseeharan et al., 2011;  
 268 Wang et al., 2017; Yudiati et al., 2016; Zeppenfeld et al., 2016; Zheng et al., 2009). However, food  
 269 supplementation with OELA for silver catfish did not generate satisfactory results for growth and  
 270 survival (Saccol et al., 2013). Corroborating with the present study, we observed that even in crops  
 271 with a density of 100 shrimps/ m<sup>2</sup> and including 1% of OELA was not suitable for the species under  
 272 study (Table 3).

273

### 274 3.4. Enzymatic profile of shrimps

275 The identification and characterization of digestive enzymes during shrimp growth is an  
 276 important step towards understanding the digestive mechanisms and formulating foods that promote

277 better growth responses. In the present study, the enzymatic results presented in Table 4 show that in  
 278 the total proteolytic activity, in the density and feed factors alone, the treatments differed significantly  
 279 ( $p < 0.05$ ). Trypsin activity showed a significant difference ( $p < 0.05$ ) only for the density factor,  
 280 whereas the chymotrypsin activity differed significantly only for the feed factor and the lipase activity,  
 281 shown with a significant difference ( $p < 0.05$ ) for the feed factor, as well as for the interaction factor  
 282 between density and feed.

283

284 Table 4 - Enzymatic activity in hepatopancreas of *M. rosenbergii* submitted to experimental diet and  
 285 different stocking densities.

| U.mg /min                      | Treatments                 |               |               |                             |                |               | ANOVA (P values) |    |       |
|--------------------------------|----------------------------|---------------|---------------|-----------------------------|----------------|---------------|------------------|----|-------|
|                                | 50 shrimps/ m <sup>2</sup> |               |               | 100 shrimps/ m <sup>2</sup> |                |               | D                | R  | D x R |
|                                | 0%                         | 0.5%          | 1%            | 0%                          | 0.5%           | 1%            |                  |    |       |
| TPA                            | 1.58±0.1<br>2              | 1.78±0.1<br>8 | 2.89±0.4<br>6 | 1.87±0.11                   | 2.40±0.08      | 3.29±0.6<br>3 | *                | *  | NS    |
| Trypsin                        | 0.47±0.0<br>2              | 0.39±0.0<br>6 | 0.39±0.0<br>4 | 0.51±0.02                   | 0.47±0.04      | 0.52±0.0<br>6 | *                | NS | NS    |
| Chymotrypsi<br>n               | 0.07±0.0<br>1              | 0.02±0.0<br>0 | 0.03±0.0<br>1 | 0.07±0.01<br>1              | 0.02±0.00<br>2 | 0.01±0.0<br>0 | NS               | *  | NS    |
| Amylase<br>(x10 <sup>3</sup> ) | 2.29±0.1<br>7              | 2.29±0.1<br>1 | 2.09±0.0<br>4 | 2.14±0.14                   | 2.29±0.26      | 2.33±0.2<br>1 | NS               | NS | NS    |
| Lipase                         | 3.21±0.4<br>3              | 5.01±0.6<br>0 | 4.46±0.3<br>6 | 4.30±0.18                   | 4.70±0.33      | 4.84±0.2<br>9 | NS               | *  | *     |

286 Means ± standard deviation presented for each treatment analyzed, for each enzyme and its respective  
 287 substrates: Total proteolytic activity (TPAc, 1% azocaseína), Trypsin (Benzoyl arginine p-nitroanilide  
 288 - BapNa), Chymotrypsin (N-succinyl- Ala-Ala-Pro-Phe-p-nitroanilide - SapNa), Amylase (2% starch),  
 289 and Lipase (p-nitrophenyl palmitate). Columns with different letters, demonstrate that there was a  
 290 significant difference for analysis of variance, two-way ANOVA ( $p < 0.05$ ).

291 The results show that the activity of the lipase evaluated in the interaction factor, was lower for  
 292 the treatment 0% - OELA with 50 shrimp/ m<sup>2</sup>, differing significantly ( $p < 0.05$ ) from the others, since  
 293 the amylase dosages were not statistically different between itself. Statistical tests point to a significant  
 294 difference in the feed factor, where it is possible to identify that the total proteolytic activity was higher  
 295 for the feed containing 1% - OELA. For SapNa (chymotrypsin), the highest activity ( $0.067 \pm 0.008$ )  
 296 was in the 0% - OELA ration and in the lipase, the same ration had the lowest value ( $3.756 \pm 0.0664$ ).  
 297 Studies and characterization of digestive enzymes in shrimp help in the search for suitable nutrient  
 298 sources for animals in cultivation (Buarque et al., 2010). In studies testing the enzymatic profile of *M.*  
 299 *amazonicum* captured in the wild and in a culture system, they point to greater enzymatic activity in  
 300 relation to trypsin and chymotrypsin in the culture system, when compared to wild animals (Da Silva  
 301 et al., 2014). Justifying that the use of balanced diets directly influence the enzymatic activity of  
 302 shrimp.

303 The data observed in the present experiment infer that the cultivated shrimp responded well to  
304 the offered diet, because of the action of the proteases that show an important absorption of amino  
305 acids and growth of these animals. Several studies point out the importance of some digestive enzymes  
306 in the digestive process of crustaceans, such as proteases, carboidrases and lipases (Brito et al., 2001;  
307 Sainz et al., 2004; Gaxiola et al., 2005; Buarque et al., 2010). Using *Lippia alba* essential oil (OELA)  
308 in aquaculture has been showing an anesthetic effect, improving water quality during fish transport,  
309 besides responses in physiological, biochemical and antioxidant parameters for some aquatic  
310 organisms (Hohlenwerger et al., 2017; Salbego et al., 2017; Souza et al., 2018). However, the use of  
311 OELA in the diet to minimize stress and improve growth is still poorly studied.

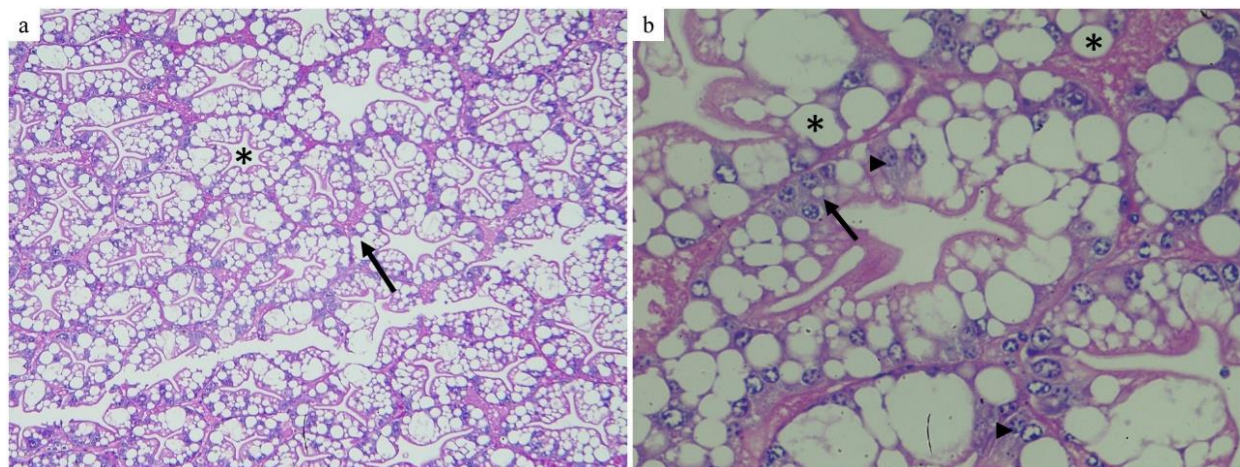
312 Souza et al. (2015) used OELA in diets for *Rhamdia quelen* testing the zootechnical potential of  
313 the animal in a stressed situation and did not observe any physiological difference in the animals.  
314 However, in the present work we verified that the total proteolytic activities and trypsin were more  
315 active among the animals fed with diet containing 1% OELA, whereas the lipase was higher in the  
316 animals that received 0.5% OELA in the diet, which also presented the best zootechnical indexes,  
317 differing from studies carried out with 2% of OELA in the diet for *M. rosenbergii* in which it did not  
318 show any influence on the growth and survival of animals grown at the density of 40 shrimps/ m<sup>2</sup>  
319 (Cagol et al., 2020). Stressful situations can interfere in the intermediary metabolism of crustaceans,  
320 through specific actions in important enzymes related to the degradation processes of carbohydrates,  
321 lipids and amino acids (Jiang et al., 2009), showing that OELA influenced the metabolism of *M.*  
322 *rosenbergii*, in addition, proteolytic enzymes play an important role in the absorption of amino acids,  
323 and relating the growth of the animal (Santos et al., 2014), since the best activity of lipids can influence  
324 various physiological processes, such as the immune response (Zhang et al., 2013). In this way, the  
325 enzymes respond to the zootechnical data, in which the high protease index provided cannibalism,  
326 evidenced by the low survival of the treatments in kept animals at a density of 100 shrimps/ m<sup>2</sup> and  
327 fed with a diet containing 1% of OELA. In addition, animals kept at a density of 50 shrimps/ m<sup>2</sup> and  
328 fed a diet containing 0.5% of OELA and had the best zootechnical indexes.

329

### 330 3.5. *Histological Profile of Hepatopancreas*

331 In crustaceans, the hepatopancreas is the organ responsible for digestion, as well as the  
332 assimilation and storage of important compounds involved in various metabolic processes (Ribeiro et  
333 al., 2011; Röszer, 2014) showing the nutritional quality of the animals. Histological analyzes show that  
334 the diet containing essential oil did not negatively influence the histoarchitecture of the hepatopancreas,  
335 since there was no difference in the organ's structure, when comparing the food offered (food with and  
336 without essential oil). The maintenance of the diet at acceptable levels of lipids, which provides health  
337 to the organ. The organs have a histoarchitecture containing E cells (embryonic), F cell (fibrillar), B

338 cell (digestive), R cell (reabsorption) and M cell (middle or basal intestine), being, in great majority,  
339 cells type R, F and B cells (Fig. 1), and that these cells are organized healthily without presenting  
340 abnormalities in the hepatopancreatic tissue.



341  
342 Fig. 2 - Optical microscopy of R, F and B digestive cells of the hepatopancreas of *Macrobrachium*  
343 *rosenbergii*: (a) - Photomicrography of the hepatopancreas of animals fed a diet counting 0.5% of  
344 OELA (10x) with star-shaped tubules (\*), (b) - Photomicrograph of the hepatopancreas of animals fed  
345 a diet counting 1% OELA (40x) showing B cells (\*), R (arrow) and F (arrow head).

346  
347 Photomicrographs show an organ formed by ducts with a blind bottom and numerous digestive  
348 cells, as observed in shrimp *M. amazonicum* (Franceschini-Vicentini et al., 2009), showing a  
349 structurally healthy hepatopancreas with an enormous amount of digestive cells. In decapod organisms,  
350 hepatopancreatic epithelial cells have original functions, both related to its structure and to the location  
351 present along the tubule (Al-mohanna and Nott, 1989; Lehnert and Johnson, 2002; Hu and Leung,  
352 2007). Histology shows that hepatopancreas were healthy when using *L. alba* in diets for *M.*  
353 *rosenbergii*, mainly because of the combined use with the corn oil and for keeping within the adequate  
354 levels of lipids in the shrimp diet. Since previous studies show that top levels of lipids decrease weight  
355 gain (Sheen and D'abramo, 1991). With this, it is possible to infer that the organs could store energy  
356 reserve and develop as the results of zootechnical performance show.

#### 357 358 **4. Conclusion**

359 The intensive production of *M. rosenbergii* can be optimized by adjusting the culture conditions  
360 such as the use of additives that minimize the antagonistic behavior of the animals. Despite the density  
361 of 50 shrimps/ m<sup>2</sup> being high for shrimp of the genus *Macrobrachium*, the essential oil provided an  
362 improvement in the zootechnical performance of the animals. Promoting satisfactory results for Feed  
363 Conversion Factor, Total Length and Survival suggesting that including 0.5% of the essential oil of

ALMEIDA, E. Tayná. Efeito de diferentes concentrações do óleo essencial de *Lippia alba* no desempenho zootéc...  
364 *Lippia alba* in the diet allowed better use and targeting of energy and for the growth of the prawns  
365 besides better animal welfare during cultivation.

366

### 367 **Acknowledgement**

368 This study was supported by the Coordination for the Improvement of Higher Education  
369 Personnel (CAPES) through a master's degree scholarship. Thanks are also extended to The Brazilian  
370 Innovation Agency (FINEP) for funding the project "RECARCINA", and and the team of each  
371 laboratory that supported the research analysis.

372

### 373 **References**

374 Albino, L. F. T., et al., 2006. Uso de prebióticos à base de mananoligossacarídeo em rações para frangos  
375 de corte. Revista brasileira de zootecnia, 35(3), 742–749. [https://doi.org/10.1590/s1516-](https://doi.org/10.1590/s1516-35982006000300015)  
376 [35982006000300015](https://doi.org/10.1590/s1516-35982006000300015)

377 Al-mohanna, S. Y., Nott, J. D., 1989. Function cytology of the hepatopancreas of *Penaeus semisulcatus*  
378 (crustacea: decapoda) during the moult cycle. Marine Biological, 101(4), 535–544.  
379 <https://doi.org/10.1007/bf00541656>

380 Alencar, R. B., et al., 2003. Alkaline proteases from digestive tract of four tropical fishes. Brazilian  
381 journal of food technology, 6, 2, 279–284.  
382 <https://pdfs.semanticscholar.org/3970/86f63a895290239325aa4d7162537e585c54.pdf>

383 Aryee, A. N. A., Simpson, B. K., Villalonga, R., 2007. Lipase fraction from the viscera of grey mullet  
384 (*Mugil cephalus*) isolation, partial purification and some biochemical characteristics. Enzyme and  
385 Microbial Technology. 40, 394-402. <https://doi:10.1016/j.enzmictec.2006.07.009>

386 Association of Official Analytical Chemists (AOAC). 2016. Official methods of analysis of AOAC  
387 International. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, 2610 pp.

388 APHA, 1985. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 16th edition. American  
389 Public Health Association, Washington DC.

390 Asadi, M. S., et al., 2018. A comparison between dietary effects of *Cuminum cyminum* essential oil  
391 and *Cuminum cyminum* essential oil, loaded with iron nanoparticles, on growth performance, immunity  
392 and antioxidant indicators of white leg shrimp (*Litopenaeus vannamei*). Aquaculture Nutrition. 24,  
393 1466-1473. <https://doi.org/10.1111/anu.12683>

394 Ballester, E. L. C. et al., 2017. Productive performance of juvenile freshwater prawns *Macrobrachium*  
395 *rosenbergii* in biofloc system. Aquaculture research, 48 (9), 4748-4755.  
396 <https://doi.org/10.1111/are.13296> Bernfeld, P., 1955. Amylases,  $\alpha$  and  $\beta$ . Methods in Enzymology,

397 149–158. [https://doi.org/10.1016/0076-6879\(55\)01021-5](https://doi.org/10.1016/0076-6879(55)01021-5) Bezerra, R. S., et al., 2005. Alkaline

ALMEIDA, E. Tayná. Efeito de diferentes concentrações do óleo essencial de *Lippia alba* no desempenho zootéc...  
398 proteases from intestine of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Process biochemistry. 40(5), 1829-  
399 1834. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2004.06.066>

400 Bradford, M. M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of  
401 protein utilizing the principle of protein binding. Analytical Biochemistry. 72(1-2), 248-254.  
402 [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3)

403 Bragagnolo, N., Rodriguez-Amaya, D. B., 1997. Otimização da determinação de colesterol por clae e  
404 teores de colesterol, lipídios totais e ácidos graxos em camarão rosa (*Farfantepenaeus brasiliensis*).  
405 Ciência e Tecnologia de Alimentos. 17(3), 275-280. [https://doi.org/10.1590/s0101-](https://doi.org/10.1590/s0101-20611997000300016)  
406 [20611997000300016](https://doi.org/10.1590/s0101-20611997000300016)

407 Brito, R., et al., 2001. Effect of different diets on growth and digestive enzyme activity in *Litopenaeus*  
408 *vannamei* (boone, 1931) early postlarvae. Aquaculture Research. 32, 257-266.  
409 <https://doi.org/10.1046/j.1365-2109.2001.00548.x>

410 Buarque, D. S., et al., 2010. Digestive proteinases and peptidases in the hepatopancreas of the southern  
411 brown shrimp (*Farfantepenaeus subtilis*) in two sub-adult stages. Aquaculture nutrition. 16, 359-369.  
412 <https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2009.00673.x>

413 Cagol, L., et al., 2020. Essential oil of *Lippia alba* in the diet of *Macrobrachium rosenbergii*: Effects  
414 on antioxidant enzymes and growth parameter. Aquaculture Research. 00, 1-9. [https](https://doi.org/10.1111/are.14569)  
415 [://doi.org/10.1111/are.14569](https://doi.org/10.1111/are.14569)

416 Cho, G. K., Heath, D. D., 2000. Comparison of tricaine methanesulphonate (ms222) and clove oil  
417 anaesthesia effects on the physiology of juvenile chinook salmon *Oncorhynchus tshawytscha*  
418 (walbaum). Aquaculture research, 31, 537–546. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2109.2000.00478.x>

419 Citarasu, T., 2010. Herbal biomedicines: a new opportunity for aquaculture industry. Aquaculture  
420 international. 18(3), 403-414. <https://doi.org/10.1007/s10499-009-9253-7>

421 Contreras-guzmán, E. S., 1994. Bioquímica de pescados e derivados. Jaboticabal: FUNEP. 409p.

422 Croos, M. D. S. T., et al., 2005. Lipid composition and fatty acid profiles of wild caught and cultured  
423 black tiger shrimp, *Penaeus monodon*, in Sri Lanka. Sri Lanka Journal Aquatic Science. 10, 35-43.

424 Cunha, M. A., et al., 2010. Essential oil of *Lippia alba*: a new anesthetic for silver catfish, *Rhamdia*  
425 *quelen*. Aquaculture. 306, 403–406. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2010.06.014>

426 Cunha, M. A., et al., 2011. Anesthetic induction and recovery of *Hippocampus reidi* exposed to the  
427 essential oil of *Lippia alba*. Neotropical ichthyology. 9, 683–688. [https://doi.org/10.1590/s1679-](https://doi.org/10.1590/s1679-62252011000300022)  
428 [62252011000300022](https://doi.org/10.1590/s1679-62252011000300022)

429 Da Silva, F. M. S., et al., 2014. Digestives proteases from wild and farmed male morphotypes of the  
430 amazon river prawn (*Macrobrachium amazonicum*). Journal of crustacean biology. 2, 189-198.  
431 <https://doi.org/10.1163/1937240x-00002215>

ALMEIDA, E. Tayná. Efeito de diferentes concentrações do óleo essencial de *Lippia alba* no desempenho zootéc...

432 D'abramo, L. R., New, M. B. 2010. Nutrition, feeds and feeding. In: new, m. B.; valenti, w. C.; tidwell,  
433 j. H.; d'abramo, l. R.; kutty, m. N. Freshwater prawns: biology and farming. Oxford: blackwell, 222p.

434 Erlanger, B. F., Kokowsky, N., Cohen, W., 1961. The preparation and properties of two new  
435 chromogenic substrates of trypsin. Archives of Biochemistry and Biophysics. 95, 271-278.  
436 [https://doi.org/10.1016/0003-9861\(61\)90145-x](https://doi.org/10.1016/0003-9861(61)90145-x)

437 FAO. The state of world fisheries and aquaculture, 2018 – meeting the sustainable development goals.  
438 Rome. <https://www.fao.org/3/i9540en/i9540en.pdf>.

439 Ferreira, N. C., Bonetti, C., Seiffert, W., 2011. Q. Hydrological and water quality indices as  
440 management tools in marine shrimp culture. Aquaculture, 318, 425-433.  
441 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2011.05.045>

442 Francis, G., Makkar, H. P. S., Becker, K., 2002. Dietary supplementation with a *Quillaja saponin*  
443 mixture improves growth performance and metabolic efficiency in common carp (*Cyprinus carpio* l.).  
444 Aquaculture. 203, 311-320. [https://doi.org/10.1016/s0044-8486\(01\)00628-7](https://doi.org/10.1016/s0044-8486(01)00628-7)

445 Franceschini-Vicentini, I. B., et al, 2009. His-to architectural features of the hepatopancreas of the  
446 amazon river prawn *Macrobrachium amazonicum*. International Journal of Morphology. 27(1), 121–  
447 128. <https://doi.org/10.4067/s0717-9502200900010002>

448 Freuchtenicht, G. W. 1987. The effect of protein level in isocaloric feeds on the growth performance  
449 of *Macrobrachium rosenbergii* individually reared in clear water flow-through aquaria. Pacific  
450 Science, 42, 119.

451 Furlan, E. F., Torres, E. A. F. S., 2010. Segurança alimentar na cadeia produtiva do camarão sete-  
452 barbas (*Xiphopenaeus kroyeri*). In: Simpósio de Ciência e Tecnologia de Alimentos. Aracaju, Sergipe.  
453 Issn: 1678-2305. Available at:  
454 [https://www.pesca.sp.gov.br/boletim/index.php/bip/article/view/37\\_3\\_317-326](https://www.pesca.sp.gov.br/boletim/index.php/bip/article/view/37_3_317-326)>. Access date: 13  
455 may 2020.

456 Furuya, W. M., et al., 2006. Composição centesimal e perfil de ácidos graxos do camarão d'água doce.  
457 Revista Brasileira Zootecnia. 35(4), 1577-1580 <https://doi.org/10.1590/s1516-35982006000600001>

458 Gaxiola, G., et al., 2005. Factorial effects of salinity, dietary carbohydrate and moult cycle on digestive  
459 carbohydrases and hexokinases in *Litopenaeus vannamei* (boone, 1931). Comparative biochemistry  
460 and physiology part a: molecular and integrative physiology. 140(1), 29-39.  
461 <https://doi.org/10.1016/j.cbpb.2004.10.018>

462 Guimarães-Lopes, T. G., 2006. Efeito sinérgico da radiação gama e da refrigeração na conservação  
463 do camarão-branco-do-pacífico (*Litopenaeus vannamei*). [dissertação de mestrado]. Universidade de  
464 são paulo. 95p. <https://doi.org/10.11606/d.11.2006.tde-30082006-143457>



ALMEIDA, E. Tayná. Efeito de diferentes concentrações do óleo essencial de *Lippia alba* no desempenho zootéc...

465 Harikrishnan, R., Balasundaram, C., Heo, M. S., 2011. Impact of plant products on innate and adaptive  
466 immune system of cultured finfish and shellfish. *Aquaculture*. 317(1-4), 1-15.  
467 <https://doi.org/doi:10.1016/j.aquaculture.2011.03.039>

468 Hohlenwerger, J. C., et al., 2017. Essential oil of *Lippia alba* in the transport of Nile tilapia. *Ciência*  
469 *Rural*. 47(03). <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20160040>

470 Hu, K. J., Leung, P. C., 2007. Food digestion by cathepsin 1 and digestion-related rapid cell  
471 differentiation in shrimp hepatopancreas. *Comparative Biochemistry and Physiology, part b*, 146, 69–  
472 80. <https://doi.org/doi:10.1016/j.cbpb.2006.09.010>

473 Immanuel, G., et al., 2004. Effect of butanolic extracts from terrestrial herbs and seaweeds on the  
474 survival, growth and pathogen (*Vibrio parahaemolyticus*) load on shrimp *Penaeus indicus* juveniles.  
475 *Aquaculture*. 236, 53-65. <https://doi:10.1016/j.aquaculture.2003.11.033>

476 Ji, S. C., et al., 2007. Dietary medicinal herbs improve growth and some non-specific immunity of red  
477 sea bream *Pagrus major*. *Fisheries Science*. 73, 63-69. [https://doi.org/doi:10.1111/j.1444-](https://doi.org/doi:10.1111/j.1444-2906.2007.01302.x)  
478 [2906.2007.01302.x](https://doi.org/doi:10.1111/j.1444-2906.2007.01302.x)

479 Jiang, H., et al., 2009. Comparative proteomic profiles of the hepatopancreas in *Fenneropenaeus*  
480 *chinensis* response to hypoxic stress. *Proteomics*. 9, 3353–3367.  
481 <https://doi.org/10.1002/pmic.200800518>

482 Kimpara, J. M., et al., 2013. Effects of Intensification of the Amazon River Prawn, *Macrobrachium*  
483 *amazonicum*, Grow-out on Effluent Quality. *Journal of the World Aquaculture Society*, 44(2), 210–  
484 219. <https://doi.org/10.1111/jwas.12021>

485 Kirschnik, P. G., et al., 2006. Shelf-life of tail meat of the giant river prawn, *Macrobrachium*  
486 *rosenbergii*, stored on ice. *Journal of aquatic food product technology*. 15, 57–71.  
487 [https://doi.org/doi:10.1300/j030v15n02\\_06](https://doi.org/doi:10.1300/j030v15n02_06)

488 Lehnert, S. A., Johnson, S. E., 2002. Expression of hemocyanin and digestive enzyme messenger rnas  
489 in the hepatopancreas of the black tiger shrimp *Penaeus monodon*. *Comparative Biochemistry and*  
490 *Physiology*. 133, 163–171. [https://doi.org/10.1016/s1096-4959\(02\)00123-9](https://doi.org/10.1016/s1096-4959(02)00123-9)

491 Leighton, T. J., et al., 1973. The relationship of serine protease activity to RNA polymerase  
492 modification and sporulation in *Bacillus subtilis*. *Journal of Molecular Biology*. 76, 103-122.  
493 [https://doi.org/10.1016/0022-2836\(73\)90083-1](https://doi.org/10.1016/0022-2836(73)90083-1)

494 Liu, B., et al., 2010. Effects of anthraquinones extracted from *Rheum officinale* bail on the growth,  
495 non-specific immune response of *Macrobrachium rosenbergii*. *Aquaculture*. 310, 13-19.  
496 <https://doi.org/doi:10.1016/j.aquaculture.2010.09.020>

497 Mercier, L., et al., 2009. Effect of diets containing different levels of highly unsaturated fatty acids on  
498 physiological and immune responses in pacific whiteleg shrimp *Litopenaeus vannamei* (boone)

ALMEIDA, E. Tayná. Efeito de diferentes concentrações do óleo essencial de *Lippia alba* no desempenho zootéc...  
499 exposed to handling stress. *Aquaculture research*. 40(16), 1849-1863. [https://doi.org/10.1111/j.1365-](https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2009.02291.x)  
500 [2109.2009.02291.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2009.02291.x)

Mól, A. L. R., Aldatz, R. J., 2014. Integração espacial no mercado do camarão. *Custos e agronegócio*  
501 online. 10(1), 29-54. <  
502 [http://www.custoseagronegocioonline.com.br/numero1v1/custos\\_na\\_carcinicultura.pdf](http://www.custoseagronegocioonline.com.br/numero1v1/custos_na_carcinicultura.pdf)>

New, M. B. Farming freshwater prawns: a manual for the culture of the giant river prawn  
504 (*macrobrachium rosenbergii*). Rome: fao fisheries technical paper, 2002. 428p.

New, M. B., et al., 2010. Freshwater prawns: biology and farming. Wiley-blackwell, Oxford. 544p.

Oliveira, R. F., Galhardo, L., 2007. Sobre a aplicação do conceito de bem-estar a peixes teleósteos e  
507 implicações para a piscicultura. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 36, 77-86.  
508 <https://doi.org/10.1590/S1516-35982007001000009>

Ribeiro, K., et al., 2011. Effect of polyunsaturated fatty acids on the fecundity of the amazon river  
510 prawn *Macrobrachium amazonicum* (heller, 1862). *Aquaculture Research* (print), 43(12), 1756-1763.  
511 <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2011.02980.x>

Rószter, T., 2014. The invertebrate mid-intestinal gland ("hepatopancreas") is an evolutionary  
513 forerunner in the integration of immunity and metabolism. *Cell and Tissue Research*, 358(3), 685–695.  
514 <https://doi.org/10.1007/s00441-014-1985-7>

Saccol, E. M. H., et al., 2013. A. Addition of *Lippia alba* (mill) n. E. Brown essential oil to the diet of  
516 the silver catfish: an analysis of growth, metabolic and blood parameters and the antioxidant response.  
517 *Aquaculture*. 416-417, 244-254. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.09.036>

Sagi, A., Ra'anan, Z., 1988. Morphotypic differentiation of males of the fresh-water prawn  
519 *macrobrachium rosenbergii*: changes in the midgut glands and the reproductive system. *Journal of*  
520 *crustacean biology*. 8(1), 43–47. <https://doi.org/10.1163/193724088x00053>

Sainz, J. C., Garcia-Carrenõ, F. L., Hernández-Cortés, P., 2004. *Penaeus vannamei* isotrypsins:  
522 purification and characterization. *Comparative Biochemistry and Physiology part b: Biochemistry and*  
523 *Molecular Biology*, 138, 155-162. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2004.03.002>

Salbego, J., et al., 2017. Biochemical parameters of silver catfish (*Rhamdia quelen*) after transport with  
525 eugenol or essential oil of *Lippia alba* added to the water. *Brazilian Journal of Biology*. 77, 696–702.  
526 <https://doi.org/10.1590/1519-6984.16515>

Santos, F. L., Azeredo, V. B., Martins, A. S. A., 2007. Efeito do fornecimento de ração complementada  
528 com semente de linhaça sobre os macronutrientes e colesterol em tecidos de camarões da malásia  
529 (*Macrobrachium rosenbergii*). *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. 27(4), 851-855.  
530 <https://doi.org/10.1590/s0101-20612007000400027>

ALMEIDA, E. Tayná. Efeito de diferentes concentrações do óleo essencial de *Lippia alba* no desempenho zootéc...  
532 Santos, E. L., Ludke, M. C. M. M., Lima, M. R., 2009. Extratos vegetais como aditivos em rações para  
533 peixes. Revista eletrônica nutritime. 6(1), 789-800.  
534 <[http://nutritime.com.br/arquivos\\_internos/artigos/077v6n1p789\\_800\\_jan2009.pdf](http://nutritime.com.br/arquivos_internos/artigos/077v6n1p789_800_jan2009.pdf)>  
535 Segal, E., Roe, A., 1975. Growth and behavior of post-juvenile *macrobrachium rosenbergii* (de man)  
536 in close confinement. Proceedings. World mariculture society. 6, 67-68.  
537 <https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.1975.tb00008>.  
538 Shearer, K. D., 1994. Factors affecting the proximate composition of cultured fishes with emphasis on  
539 salmonids. Aquaculture, 119(1), 63–88. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(94\)90444-8](https://doi.org/10.1016/0044-8486(94)90444-8)  
540 Sheen, S. S., D'abramo, L. R., 1991. Response of juvenile fresh-water prawn, *Macrobrachium*  
541 *rosenbergii*, to different levels of a cod liver oil corn-oil mixture in a semi-purified diet. Aquaculture.  
542 93(2), 121-134. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(91\)90211-o](https://doi.org/10.1016/0044-8486(91)90211-o)  
543 Sivertsvik, M., Jeksrud, W., Rosnes, T., 2002. A review of modified atmosphere packaging of fish and  
544 fisherie products – significance of microbial growth, activities and safety. International Journal of Food  
545 Science and Technology. 37, 107-127. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2621.2002.00548.x>  
546 Souza, C. F., et al., 2015. *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard, 1824), submitted to a stressful condition:  
547 effect of dietary addition of the essential oil of *Lippia alba* on metabolism, osmoregulation and  
548 endocrinology. Neotropical Ichthyology, 13(4), 707-714.  
549 Souza, C. F., et al., 2018. Citral and linalool. chemotypes of *Lippia alba* essential oil as anesthetics for  
550 fish: A detailed physiological analysis of side effects during anesthetic recovery in silver catfish  
551 (*Rhamdia quelen*). Fish Physiology and Biochemistry. 44, 21–34. [https://doi.org/10.1007/s10695-017-](https://doi.org/10.1007/s10695-017-0410-z)  
552 [0410-z](https://doi.org/10.1007/s10695-017-0410-z)  
553 Terblanche, F. C., Kornelius, G., 1996. Essential oil constituents of the genus *Lippia* (verbenaceae) - a  
554 literature review. Journal of essential oil research, 8, 471–485.  
555 <https://doi.org/10.1080/10412905.1996.9700673>  
556 Vale, T. G., et al., 1999. Behavioral effects of essential oil from *Lippia alba* (mill.) N. E. Brown.  
557 Journal of Ethnopharmacology. 167, 127–133. [https://doi.org/10.1016/s0378-8741\(98\)00215-3](https://doi.org/10.1016/s0378-8741(98)00215-3)  
558 Vale, T. G., et al., 2002. Central effects of citral, myrcene and limonene, constituents of essential oil  
559 chemotypes from *Lippia alba* (mill.) N. E. Brown. Phytomedicine. 9, 709–714.  
560 <https://doi.org/10.1078/094471102321621304>  
561 Van Wormhoudt, A., Ceccaldi, H. J., Martin, B. J., 1980. Adaptation de la teneur en enzymes digestives  
562 de l'hepatopancreas de *Palaemon serratus* (crustacea, decapoda) a la composition d'aliments  
563 experimentaux. Aquaculture. 21, 63-78. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(80\)90126-x](https://doi.org/10.1016/0044-8486(80)90126-x)

ALMEIDA, E. Tayná. Efeito de diferentes concentrações do óleo essencial de *Lippia alba* no desempenho zootéc...

564 Vaseeharan, B., et al., 2011. Antibacterial activity of *Allium sativum* against multidrug-resistant *Vibrio*  
565 *harveyi* isolated from black gill–diseased *Fenneropenaeus indicus*. Aquaculture international. 19, 531-  
566 539. <https://doi.org/10.1007/s10499-010-9369-9>

567 Walker, P. J.; Mohan, C. V., 2009. Viral disease emergence in shrimp aquaculture: origins, impact and  
568 the effectiveness of health management strategies. Reviews in aquaculture. 1(2), 125-154.  
569 <https://doi.org/10.1111/j.1753-5131.2009.01007.x>

570 Wang, Y., et al, 2017. Effects of dietary *Rhodila rosea* on growth performance, antioxidant capacity  
571 of white shrimp *Litopenaeus vannamei* under normal condition and combined stress of low-salinity  
572 and nitrite. Aquaculture nutrition. 23(3), 548-559. <https://doi.org/10.1111/anu.12422>

573 Yudiati, E., et al., 2016. Innate immune-stimulating and immune genes up-regulating activities of three  
574 types of alginate from *Sargassum siliquosum* in pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. Fish  
575 Shellfish Immunology. 54, 46-53. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2016.03.022>

576 Zeppenfeld, C. C., et al., 2016. Essential oil of *Aloysia triphylla* as feed additive promotes growth of  
577 silver catfish (*Rhamdia quelen*). Aquaculture Nutrition. 22(4), 933-940.  
578 <https://doi.org/10.1111/anu.12311>

579 Zétola, M., et al., 2002. Cns activities of liquid and spray-dried extracts from *Lippia alba* - verbenaceae  
580 (brazilian false melisse). Journal of ethnopharmacology. 82, 207–215.  
581 [https://doi.org/doi:10.1016/s0378-8741\(02\)00187-3](https://doi.org/doi:10.1016/s0378-8741(02)00187-3)

582 Zhang, S. P., et al., 2013. Effects of different dietary lipid level on the growth, survival and  
583 immunerelating genes expression in Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. Fish Shellfish  
584 Immunol. 34, 1131–1138. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2013.01.016>

585 Zheng, z. L.; tan, j. Y. W.; liu, h. Y.; zhou, x. H.; xiang, x.; wang, k. Y. Evaluation of oregano essential  
586 oil (*origanum heracleoticum* l.) On growth, antioxidant, effect and resistance against *aeromonas*  
587 *hydrophila* in channel catfish (*ictalurus punctatus*). Aquaculture, v.292, p.214-218, 2009.  
588 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2009.04.025>

589 Zhou, J., et al., 2010. Effect of temperature on antioxidant enzyme gene expression and stress protein  
590 response in white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. Journal of thermal biology. 35, 6, 284-289.  
591 <https://doi.org/doi:10.1016/j.jtherbio.2010.06.004>

592 Zimmermann, S., 1998. Manejo da fase de crescimento final. In: Valenti, W. C., 1998. Carcinicultura  
593 de água doce: tecnologia para a produção de camarões. Fundação de amparo à pesquisa do estado de  
594 São Paulo (FAPESP) e instituto brasileiro do meio ambiente e dos recursos naturais renováveis  
595 (IBAMA): Brasília, p.191-215.

No presente trabalho, é possível observar que os resultados obtidos no desempenho zootécnico dos animais que foram alimentados com a dieta contendo o óleo essencial de *Lippia alba*, mostram que o óleo interferiu positivamente tanto no ganho de peso, quanto na sobrevivência que esteve acima de 83%, chegando até 96,25%. A espécie *M. rosenbergii* por ser muito territorialista e apresentar um comportamento agonístico, acaba implicando nos resultados dos cultivos com relação ao ganho de peso e sobrevivência, devido as brigas nos viveiros e alguns dos animais acabam não tendo o consumo de alimento adequado, além de gastar suas reservas energéticas para defesa durante os conflitos.

Os dados de desempenho zootécnico mostram claramente que a espécie em estudo, mesmo sendo cultivada em altas densidades como as utilizadas no experimento, pôde se desenvolver ao longo do cultivo, evidenciando assim, que o óleo essencial é adequado para utilização na dieta do *M. rosenbergii*. Um aspecto importante é que podendo ser cultivado em elevadas densidades com o uso do óleo essencial de *L. alba*, é possível cultivar esta espécie em ambientes menores, providos de sistema de recirculação, diminuindo assim o desperdício com recursos hídricos. Outro ponto é que devido a pesquisa ser realizada em pequena escala e em ambiente artificial, seria indicado a realização de novos testes para ambientes naturais, que se assemelha aos sistemas de cultivo convencionais e hoje existentes para a espécie.

- ADIYODI, K. G.; ADIYODI, R. G. Endocrine control of reproduction in Decapod Crustacea. **Biological Reviews**, v.45, p.121-165, 1970.
- APARICIO-SIMÓN, B.; PIÑÓN, M.; RACOTTA, R.; RACOTTA, I. S. Neuroendocrine and metabolic responses of Pacific whiteleg shrimp *Litopenaeus vannamei* exposed to acute handling stress. **Aquaculture**, v.298, p.308–314, 2010.
- ARAÚJO, D. C. Avaliação do programa nacional de desenvolvimento da aquicultura: o caso da carcinicultura marinha no Nordeste. 2003. 139p. **Dissertação (Mestrado)** - Universidade Federal de Pernambuco, Recife.
- BALLESTER, E. L. C.; DUTRA, F. M. UFPR desenvolve projeto de carcinicultura de água doce. **Revista Panorama da Aquicultura**, v.154 (26), p.38-43, 2016.
- BATESON, P. Assessment of pain in animals. **Animal Behaviour**, v. 42, p.827–839. 1991.
- BRUSCA, R. C.; BRUSCA, G. J. **Invertebrados**. 2.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2007, 938p.
- BROWN, J. H.; NEW, M. B.; ISMAEL, D. Biology. In: NEW, M. B.; VALENTI, W. C.; TIDWELL, J. H.; D'ABRAMO, L. R.; KUTTY, M. N. Freshwater prawns: Biology and farming. Oxford: Blackwell, 2010, 18p.
- CITARASU, T. Herbal biomedicines: a new opportunity for aquaculture industry. **Aquaculture International**, v.18, p.403-414, 2010.
- COYLE, S. D.; DASGUPTA, S.; TIDWELL, J. H.; BEAVERS, T.; BRIGHT, L. A.; YASHARIAN, D. K. Comparative Efficacy of Anesthetics for the Freshwater Prawn *Macrobrachium rosenbergii*. **Journal of the World Aquaculture Society**, v.36, p.282-290, 2005.
- CUNHA, M. A.; BARROS, F. M. C.; GARCIA, L. O.; VEECK, A. P. L.; HEINZMANN, B. M.; LORO, V. L.; EMANUELLI, T.; BALDISSEROTTO, B. Essential oil of *Lippia alba*: a new anesthetic for silver catfish, *Rhamdia quelen*. **Aquaculture**, v.306, p.403–406, 2010.
- CUNHA, M. A.; SILVA, B. F.; DELUNARDO, F. A. C.; BENOVI, F. C.; GOMES, L. C.; HEINZMANN, B. M.; BALDISSEROTTO, B. Anesthetic induction and recovery of *Hippocampus reidi* exposed to the essential oil of *Lippia alba*. **Neotropical Ichthyology**, v.9, p.683–688, 2011.
- DAWKINS, M. S. **Why animals matter**: Animal consciousness, animal welfare, and human well-being. Oxford, U. K: Oxford University Press, 2012.
- DAY, M. D.; MC ANDREW, T. D. The biology and host range of *Falconia intermedia* (Hemiptera: Miridae), a potential biological control agent for *Lantana camara* (Verbenaceae) in Australia. **Biocontrol Science and Technology**, v.13, p.13–22, 2003.

- ALMEIDA, E. Tayná. Efeito de diferentes concentrações do óleo essencial de *Lippia alba* no desempenho zootéc...
- ELWOOD, R. W. Pain and suffering in invertebrates. **Ilar Journal**, v.52, p.175-184, 2011.FAO.
- (2018). *The State of World Fisheries and Aquaculture 2018—Meeting the sustainable development goals*. Rome. <http://www.fao.org/3/i9540en/I9540EN.pdf>.
- GENTLE, M. Pain in poultry. **Applied Animal Behaviour Science**, v.135, p.252-258, 2011.
- HARIKRISHNAN, R.; BALASUNDARAM, C.; HEO, M. S. Impact of plant products on innate and adaptive immune system of cultured finfish and shellfish. **Aquaculture**, v.317, p.1-15, 2011.
- HUBERMAN, A. Shrimp Endocrinology. A review. **Aquaculture**, v.191, p.191- 208, 2000.
- KARPLUS, I. Social Control of Growth in *Macrobrachium rosenbergii* (De Man): a review and prospects for future research. **Aquaculture research**. v.36, p.238-254, 2005.
- KYOMO, J. Analysis of the relationship between gonads and hepatopancreas in males and females of the crab *Sesarma intermedia*, with reference to resource use and reproduction. **Marine Biology**, v.14, p.104-110, 1988.
- LEWBART, G. A.; MOSLEY, C. Clinical anesthesia and analgesia in invertebrates. **Journal of Exotic Pet Medicine**, v.21, p.59–70, 2012.
- LORENZON, S.; EDOMI, P.; GIULIANINI, P. G.; METTULIO, R.; FERRERO, E. A. Role of biogenic amines and CHH in the crustacean hyperglycemic stress response. **Journal of experimental Biology**, v.208, p.3341–3347, 2005.
- MAGEE, B.; ELWOOD R. W. Shock avoidance by discrimination learning in the shore crab (*Carcinus maenas*) is consistent with a key criterion for pain. **Journal Experimental Biology**, v.216, p.353-358, 2013.
- McLAUGHLIN, P. A. Internal anatomy, 1983. In: MANTEL, L. H. The biology of Crustacea. New York: Internal anatomy and physiological regulation, **academic press**, v.5, 471p.
- MELLOR, S. Herbs and spices promote health and growth. **Pig Progress**, v.16, n.4, p.18-21, 2000.
- NARCHI, W. **Crustáceos**. São Paulo: Editora Polígono - EDUSP, 1973. 116p.
- NATORI, M. M.; SUSSEL, F. R.; SANTOS, E. D.; PREVIERO, T. D. C.; VIEGAS, E. M. M.; GAMEIRO, A. H. Desenvolvimento da carcinicultura marinha no Brasil e no mundo: avanços tecnológicos e desafios. **Informações Econômicas**, v.41, n.2, p.61-73, 2011.
- NEW, M. B.; SINGHOLKA, S. Cultivo de camarón de agua dulce. Manual para el cultivo de *Macrobrachium rosenbergii*. FAO, **Documento Técnico de Pesca**, v.225, p.118, 1984.
- NEW, M. B. Status of freshwater prawn farming: a review. **Aquaculture Research**, v.26, p.1-54, 1995.
- NEW, M. B. History and global status of freshwater prawn farming. In: NEW, M.B.; VALENTI, W. C. (Eds.) **Freshwater prawn culture: the farming of *Macrobrachium rosenbergii***. Oxford: Blackwell, 2000, 01-11p.
- NEW, M. B. **Farming freshwater prawns: a manual for the culture of the giant river prawn (*Macrobrachium rosenbergii*)**. Rome: FAO fisheries technical paper. 2002, 212p.

- ALMEIDA, E. Tayná. Efeito de diferentes concentrações do óleo essencial de *Lippia alba* no desempenho zootéc...
- NUNES, J. O.; BERTECHINI, A. G.; BRITO, J. A.; FASSANI, E. J.; MESQUITA, F. R.; MAKIYAMA, L.; MENEGHETTI, C. Evaluation of the probiotic (*Bacillus subtilis* C-3102) as additive to improve performance in broiler chicken diets. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.41, n.11, p.2374-2378, 2012.
- PASCUAL, M. E.; SLOWING, K., CARRETERO, E., SÁNCHEZ MATA, D., VILLAR, A. *Lippia*: traditional uses, chemistry and pharmacology: a review. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 76, p. 201–214, 2001.
- PINHEIRO, M. A. A; HEBLING, N. J. Biologia de *Macrobrachium rosenbergii* (De Man, 1879). In: VALENTI, W. C. **Carcinicultura de água doce**: Tecnologia para a produção de camarões. Brasília: Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis, 1998. p.21-46.
- PRYMACZOK, N. C.; PASQUALINO, V. M.; VIAU, V. E.; RODRIGUEZ, E. M.; MEDESANI, D. A. Involvement of the crustacean hyperglycemic hormone (CHH) in the physiological compensation of the freshwater crayfish *Cherax quadricarinatus* to low temperature and high salinity stress. **Journal of Comparative Physiology B**, v.186, n.2, p.181-191, 2016.
- RA'ANAN, Z.; COHEN, D. Ontogeny of social structure and population dynamics in the giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii* (De Man), in Wenner, A.M. (ed.), **Factors in adult growth**. August Aimé Balkema, Boston, p.277-311, 1985.
- ROSE, J. D. The neurobehavioral nature of fishes and the question of awareness and pain. **Reviews in Fisheries Science**, v.10, p.1–38, 2002.
- ROSTAGNO, H. S.; ALBINO, L. F. T.; FERES, F. A.; DIONIZIO, M. A.; VARGAS JUNIOR, J. Utilização de probióticos e prebióticos em aves. In: FERREIRA, C. L. F. (Ed.). **Prebióticos e probióticos**: atualização e prospecção. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, p.181-202, 2003.
- RUPPERT, E. E.; FOX, R. D.; BARNES, R. D. **Zoologia dos Invertebrados**. 6ed. São Paulo: Roca. 1996.
- SANTOS, E. L.; LUDKE, M. C. M. M.; LIMA, M. R. Extratos vegetais como aditivos em rações para peixes. **Revista Eletrônica Nutri time**, v.6, n.1, p.789- 800, 2009.
- SANTIN, E.; MAIORKA, A.; MACARI, C.; GRECCO, M.; SANCHEZ, J. C.; OKADA, T. M.; MYASAKI, A. M. Performance and intestinal mucosa development of broiler chickens fed diets containing *Sacharomyces cerevisiae* cell wall. **Journal of Applied Poultry Research**, v.10, p.236-244, 2001.
- SANTOS, D. B. Comportamento do camarão de água doce *Macrobrachium rosenbergii* (De Man, 1879) em cultivos misto e monossexo. 2013. 141p. **Tese (Doutorado)** - Universidade Federal do Rio Grande do Norte.



- ALMEIDA, E. Tayná. Efeito de diferentes concentrações do óleo essencial de *Lippia alba* no desempenho zootéc...
- SEGAL, E.; ROE, A. Growth and behavior of post-juvenile *Macrobrachium rosenbergii* (de Man) in close confinement. Proceedings. **World Mariculture Society**, v.6, p.67-68, 1975.
- SHERWIN, C. M. Can invertebrates suffer? Or how robust is argument by-analogy? **Animal Welfare**, v.10, p.103–118. 2001.
- SINGH, G.; RAO, G. P.; KAPOOR, P. S.; SINGH, O. P. Chemical constituents and antifungal activity of *Lippia alba* Mill. leaf essential oil. **Journal of Medicinal and Aromatic Plant Sciences**, v.22, p.701–703, 2000.
- SNEDDON, L. U.; ELWOOD, R. W.; ADAMO, S. A.; LEACH, M. C. Defining and assessing animal pain. **Animal Behaviour**, v.97, p.201-212, 2014.
- SNEDDON, L. U. Pain in aquatics animals. **The Journal of Experimental Biology**, v.218, 967- 976, 2015.
- STEINER, T.; ENCARNACAO, P. Latest trends in gut health management. Kailua, Hawaii: **Aquafeed Advances in Processing & Formulation**, 2010, 9-10p.
- VALE, T. G.; MATOS, F. J. A.; LIMA, T. C. M.; VIANA, G. S. B. Behavioral effects of essential oil from *Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown. **Journal of Ethnopharmacology**, v.167, p.127–133, 1999.
- VALE, T. G.; FURTADO, E. C.; SANTOS JR, J. G.; VIANA, G. S. B. Central effects of citral, myrcene and limonene, constituents of essential oil chemotypes from *Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown. **Phytomedicine**, v.9, p.709–714, 2002.
- WEBSTER, S. G. Endocrinology of metabolism and water balance: Crustacean Hyperglycemic Hormone. **Physiology**, v.4, n.36, 2015.
- WICKINS, J. F. Prawn biology and culture. **Oceanography and Marine Biology Annual Review**. v.14, p.435-507, 1976.
- YU-WEN. The benefits of oregano essential oil for aquaculture production. **International Aquafeed**, v.4, p.16-19, 2009.
- ZÉTOLA, M.; LIMA, T. C. M.; SONAGLIO, D.; GONZÁLEZ-ORTEGA, G.; LIMBERGER, R.L.; PETROVICK, P. R.; BASSANI, V. L. CNS activities of liquid and spray-dried extracts from *Lippia alba* — Verbenaceae (Brazilian false melisse). **Journal of thnopharmacology**, v. 82, p. 207–215, 2002.