

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE ZOOTECNIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

DISSERTAÇÃO

**Óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare*) como aditivo em
dieta para alevinos de tilápia *Oreochromis niloticus* criadas em
água salinizada**

Guilherme Melgaço Heluy

2019



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE ZOOTECNIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

**Óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare*) como aditivo
em dieta para alevinos de tilápia *Oreochromis niloticus*
criadas em água salinizada**

Guilherme Melgaço Heluy

Sob a Orientação do Professor Pesquisador
Marcelo Maia Pereira

E Coorientação dos Pesquisadores
Leonardo Rocha Vidal Ramos
Virgínia Fonseca Pedrosa

Dissertação submetida como
requisito parcial para obtenção do
grau de **Mestre**, no Programa de
Pós-Graduação em Zootecnia,
Área de Concentração em
Produção Animal.

Seropédica, RJ
Abril de 2019

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Biblioteca Central / Seção de Processamento Técnico

Ficha catalográfica elaborada
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

H474 Heluy, Guilherme Melgaço, 1993-
Óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare*) como aditivo em dieta para alevinos de tilápia *Oreochromis niloticus* criadas em água salinizada / Guilherme Melgaço Heluy. - Seropédica, 2019.
41 f. : il.

Orientador: Marcelo Maia Pereira.
Coorientador: Leonardo Rocha Vidal Ramos.
Coorientadora: Virgínia Fonseca Pedrosa.
Dissertação (Mestrado). -- Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Programa de pós-graduação em zootecnia, 2019.

1. Fitoterápicos. 2. Desempenho produtivo. 3. Eficiência alimentar. I. Pereira, Marcelo Maia, 1982, orient. II. Ramos, Leonardo Rocha Vidal, 1985-, coorient. III. Pedrosa, Virgínia Fonseca, 1981-, coorient. IV Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Programa de pós-graduação em zootecnia. V. Título.

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE ZOOTECNIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

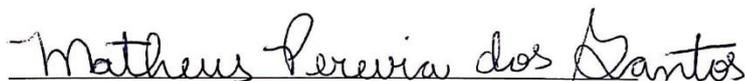
GUILHERME MELGAÇO HELUY

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre** no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, área de Concentração em Produção Animal.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 25/04/2019



Leonardo Rocha Vidal Ramos. Dr. UFRRJ
(Presidente)


Matheus Pereira dos Santos. Dr. UFRRJ

Rodrigo Takata. Dr. FIPERJ

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho

Aos meus pais Antonio e Valdéa e a minha avó Emília, pela atenção, apoio, carinho, compreensão e amor incondicional todos esses anos. Vocês sempre foram a minha inspiração nessa vida. Não chegaria tão longe sem a ajuda de vocês.

A minha namorada Jéssica, pois desde o início do mestrado sempre esteve do meu lado, me estimulando a dar o meu melhor e a nunca desistir.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais Antonio e Valdéa, por seu amor, seus ensinamentos e por todo apoio que sempre na minha formação como ser humano.

À minha avó Emília, que sempre foi minha segunda mãe e alguém com quem sempre pude contar.

À minha irmã Juliana, que por mais que vivemos brigando, gostamos muito um do outro e sei que posso contar com ela.

À minha namorada Jéssica, pelo seu amor, pelo seu apoio, sua paciência, carinho e por sempre estar do meu lado, especialmente nos momentos mais difíceis.

Aos amigos que fiz durante a minha graduação e durante o mestrado: Carlos, Paulo, Karine e Pedro, que moraram comigo alguns anos e me ajudaram e aturaram bastante durante esse tempo. Também aos meus amigos Adélia, Bárbara, Cristiane, Igor, Letícia, Lorhaine, Peter e Sérgio por sempre estarem do meu lado e por me fazer mais feliz durante essa caminhada.

Ao meu orientador Dr. Marcelo Maia, pela oportunidade e pelo apoio durante a orientação.

As pessoas que conheci durante minha estadia na FURG, principalmente à minha coorientadora Dra. Virgínia Pedrosa e ao professor Dr. Luis Alberto Romano, por me ajudarem bastante nessa etapa e por terem disponibilizado seu tempo comigo.

Ao meu coorientador professor Dr. Leonardo Ramos, pelo grande conhecimento adquirido, tanto profissional como de vida e pela idealização do projeto de pesquisa. Isso me tornou um profissional e um ser humano melhor.

À Dra. Letícia Vidal e aos técnicos do laboratório de Bromatologia, em especial ao Felipe, pela ajuda e paciência.

À banca de defesa Dr. Matheus Pereira da Silva e Dr. Rodrigo Takata pelas sugestões na correção deste trabalho.

Ao Marcelo e demais funcionários do Instituto de Zootecnia.

À FIPERJ por ceder os animais que foram utilizados durante o experimento.

À Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro e ao Programa de Pós-graduação em Zootecnia, pela oportunidade de cursar o mestrado.

O presente trabalho foi realizado com apoio da coordenação de aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) – Código de Financiamento 001.

RESUMO

Heluy, Guilherme Melgaço. **Óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare*) como aditivo em dieta para alevinos de tilápia *Oreochromis niloticus* cultivados em água salinizada**. 2019. 42p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia). Instituto de Zootecnia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2019.

A tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) é atualmente a espécie de peixe de água doce mais criada no Brasil. Uma das vantagens do seu cultivo é a capacidade de tolerar certo nível de salinidade na água, aumentando os estudos com essa espécie nesse ambiente. Aditivos fitogênicos são produtos derivados de plantas que são adicionados às dietas dos animais de produção com a finalidade de melhorar o seu desempenho produtivo. Dentre eles, o óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare*) se destaca por ser um composto natural e seguro, tanto para os animais e humanos, quanto para o meio ambiente, possuindo potencial para ser utilizado como promotor de crescimento, melhorando a eficiência alimentar. Com isso, o trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar os efeitos do óleo essencial de orégano sobre o desempenho zootécnico, glicemia sanguínea, composição química das carcaças e na morfometria intestinal da tilápia do Nilo, cultivada em água salinizada. O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso, com cinco tratamentos e quatro repetições, onde foi avaliado uma dieta controle e quatro contendo diferentes concentrações de óleo essencial de orégano (0,75; 1,5; 2,25; 3,0 g kg⁻¹). Os peixes (1,47±0,39 g) foram distribuídos em vinte tanques contendo 60 litros de volume útil de água salinizada a 10 g L⁻¹, na densidade de 0,5 peixes L⁻¹ (vinte peixes por tanque) e foram alimentados *ad libitum*, quatro vezes ao dia, durante 64 dias. Houve efeito significativo (p<0,05) na inclusão de 0,0; 0,75; 2,25 e 3,0 g kg⁻¹ de óleo essencial de orégano na dieta para os parâmetros de desempenho zootécnico de ganho de peso, taxa de conversão alimentar aparente, taxa de eficiência alimentar e taxa de eficiência proteica. Para morfometria intestinal, houve efeito significativo sobre o comprimento das vilosidades, que foram maiores quanto maior o nível de inclusão de óleo essencial de orégano na dieta, sendo o nível de 3,0 g kg⁻¹ o que apresentou os resultados mais expressivos para esse parâmetro. Dessa forma, pode-se concluir que a adição do óleo essencial de orégano em dietas para tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), no nível de 3,0 g Kg⁻¹, cultivadas em água salinizada, pode atuar como estimulador do crescimento das vilosidades intestinais e, conseqüentemente, promotor de crescimento.

Palavras-chave: Fitoterápicos, Desempenho produtivo, Eficiência alimentar.

ABSTRACT

Heluy, Guilherme Melgaço. **Oregano essential oil (*Origanum vulgare*) as a dietary additive for juveniles of tilapia *Oreochromis niloticus* grown in salinized water.** 2019. 42p. Dissertation (Master in Animal Science). Instituto de Zootecnia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2019.

Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) is currently the most widely created freshwater fish species in Brazil. One of the advantages of its cultivation is the ability to tolerate a certain level of salinity in the water, increasing the studies with this species in this environment. Phytogetic additives are plant derived products that are added in the diets of animals for improving their productive performance. Among them, oregano essential oil (*Origanum vulgare*) stands out as being a natural and safe compound, both for animals and humans, as well as for the environment, having the potential to be used as a growth promoter, improving food efficiency. The subject of this study was to evaluate the effects of Oregano essential oil on zootechnical performance, blood glycemia, body composition and intestinal morphometry of Nile tilapia reared in salinized water. The experimental design was completely randomized, where a control diet and four containing different concentrations of oregano essential oil (0.75; 1.5; 2.25; 3.0 g kg⁻¹). The fish (1.47 ± 0.39 g) were distributed into twenty tanks containing 60 liters of saline water at 10 g L⁻¹ at the density of 0.5 fish L⁻¹ (twenty fish per tank) and fed *ad libitum* four times day during 64 days. There was a significant effect (p<0.05) on the inclusion of 0.0; 0.75; 2.25 and 3.0 g kg⁻¹ of oregano essential oil in the diet for the parameters of zootechnical performance gain weight, apparent feed conversion rate, feed efficiency ratio and feed rate protein efficiency. There was also a significant effect on the villus length, which was higher than the level of reading of essential level of oregano in the diet, being the level of 3.0 g kg⁻¹ which presented the most expressive results for this parameter. Thus, it can be concluded that the addition of oregano essential oil in diets for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) at the level of 3.0 g Kg⁻¹, grown in salinized water, can act as a stimulator of villi growth intestinal and, consequently, growth promoting.

Keywords: Phytotherapics, Growth performance, Food efficiency.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Composição centesimal das dietas experimentais (g/kg da matéria seca).....	10
Tabela 2.	Desempenho zootécnico e nível de glicose dos alevinos de tilápia do Nilo alimentados com dietas contendo diferentes concentrações de óleo essencial de orégano durante 64 dias.....	17
Tabela 3.	Composição centesimal dos alevinos de tilápia do Nilo alimentados com dietas contendo diferentes concentrações de óleo essencial de orégano durante 64 dias.....	18
Tabela 4.	Parâmetros intestinais de alevinos de tilápia do Nilo alimentados com dietas contendo diferentes concentrações de óleo essencial de orégano durante 64 dias.....	18

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Estação de Biologia Marinha (EBM): (A) Vista de frente; (B) Vista externa da área experimental.....	8
Figura 2.	Manejo inicial: (A) Medição dos animais para aferição da biometria inicial; (B) Disposição dos tanques utilizados durante o experimento.....	9
Figura 3.	Preparação das dietas: (A) Peletização das dietas; (B) Estufa para secagem da ração; (C) Equipamento pra trituração dos pellets formados.....	11
Figura 4.	Equipamentos utilizados para análise de água: (A) Multiparâmetro Akso® e (B) refratômetro de salinidade Instrutherm® utilizados ao longo do experimento.....	12
Figura 5.	Etapas pré-eutanásia: (A) Medição de glicose com medidor Freestyle Optium Neo®; (B) Pesagem individual de amostras de tilápias.....	13
Figura 6.	Algumas etapas da análise de composição centesimal: (A) Amostras dentro de forno mufla para determinação de matéria mineral; (B) Amostras dentro do extrator de Soxhlet para determinação de extrato etéreo.....	14
Figura 7.	Etapas do processo de morfometria intestinal: (A) Processador automático Leica TP1020®; (B) Corte em secções de 5µ no micrótomo Leica RM2245®; (C) Microscópio óptico OLYMPUS BX51®, lente para captura de imagens OLYMPUS UC30® e software OLYMPUS cellSens Standard 2.1®.....	15
Figura 8.	Comparação visual entre a altura das vilosidades intestinais de tilápia do Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>) do grupo controle (A); do grupo alimentado com 0,75 (B); 1,5 (C); 2,25 (D); 3,0 (E) g kg ⁻¹ de óleo essencial de orégano (<i>Origanum vulgare</i>). Escala: 100 µm.....	19

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	2
2.1 O Cenário Atual da Aquicultura.....	2
2.2 A Tilapicultura no Brasil.....	2
2.3 A Produção de Tilápias do Nilo em Água Salinizada.....	3
2.4 O Aumento no Uso de Aditivos na Produção Aquícola.....	4
2.5 O Uso dos Óleos Essenciais.....	5
2.6 A Utilização do Óleo Essencial de Orégano na Produção Animal.....	6
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	8
3.1 Local do Experimento.....	8
3.2 Animais e Manejo Inicial.....	8
3.3 Delineamento Experimental e Tratamentos.....	9
3.4 Qualidade da Água e do Ambiente Experimental.....	11
3.5 Avaliação do Desempenho Zootécnico e Fisiológico.....	12
3.6 Composição Proximal.....	13
3.7 Morfometria Intestinal.....	14
3.8 Análises Estatísticas.....	15
4 RESULTADOS.....	16
4.1 Desempenho Zootécnico e Fisiológico.....	16
4.2 Composição Centesimal.....	16
4.3 Morfometria Intestinal.....	16
5 DISCUSSÃO.....	20
6 CONCLUSÃO.....	23
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	24

1 INTRODUÇÃO

A aquicultura é uma atividade que se encontra em crescente expansão, tendo praticamente dobrado a sua produção anual, quando comparado com o início do século XXI (FAO, 2018). O Brasil é um dos maiores produtores mundiais de peixes de água doce e quarto maior produtor mundial da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), espécie que apresenta maior expansão na produção brasileira (IBGE, 2016).

As tilápias do Nilo foram introduzidas no Brasil na década de 1970 e como possuem origem africana, se adaptaram bem as condições climáticas tropicais do país (MELO e STIPP, 2001). Essa espécie consegue se alimentar de itens básicos da cadeia trófica, possuem curto ciclo de engorda, maior resistência à diversas condições ambientais, desovam o ano todo e aceitam uma ampla variedade de alimentos (SHOEMAKER et al., 2000). Outra característica importante sobre a tilápia é a sua capacidade de tolerar níveis de salinidade na água, tornando o cultivo dessa espécie uma alternativa principalmente em regiões estuarinas ou costeiras (PEREIRA et al., 2016).

Com a crescente expansão da aquicultura, houve a sua intensificação com redução das áreas de produção e aumento da densidade de cultivo dos peixes, ocorrendo conseqüentemente, diminuição no desempenho produtivo dos mesmos (SÁNCHEZ-MUROS et al., 2016). Isso resultou no uso indiscriminado de antibióticos como promotores de desempenho, gerando crescentes problemas relacionados à segurança alimentar na produção animal, como a seleção e proliferação de bactérias resistentes (SOUZA et al., 2010, SANTOS e RAMOS, 2018).

Posteriormente, com o objetivo de obter a melhor qualidade do produto final, o uso de antibióticos para essa finalidade foi proibido em 2006 pela União Europeia (CATALAN et al., 2012), devido principalmente à resistência bacteriana gerada pelo seu uso descontrolado, aumentando os estudos que buscam alternativas viáveis (ERTAS et al., 2005). Entre essas alternativas, destacam-se os ácidos orgânicos, enzimas e probióticos, substâncias já bem estabelecidas para uso em dietas e os óleos essenciais, que são aditivos fitogênicos dos quais ainda se possui certo desconhecimento sobre as conseqüências do uso na nutrição animal (WINDISCH, 2008; ZENG et al., 2015).

Os aditivos fitogênicos são substâncias oriundas de plantas medicinais ou de especiarias, que evidenciam resultados positivos na produção e na saúde dos animais (PERIĆ et al., 2009). Os óleos essenciais se destacam nesse grupo e são caracterizados como compostos voláteis e complexos, oriundos de uma mistura natural de substâncias orgânicas, sintetizada por plantas aromáticas (SUTILI et al., 2017). Uma das possíveis funções que esses óleos podem desempenhar é a alteração da morfometria intestinal, possibilitando maior absorção de nutrientes, melhorando os índices de desempenho zootécnico dos animais de produção (MOHAMED, et al., 2014).

O óleo essencial de orégano (OEO) (*Origanum* sp.) e o seu principal constituinte, o carvacrol, são crescentemente estudados para utilização na nutrição animal, especialmente em animais monogástricos, como aves, suínos e peixes, pois além da sua fácil obtenção e uso, estudos mostram que, quando inclusos em dietas, podem atuar como otimizador de desempenho (FERREIRA et al., 2014), como antibacteriano (RATTANACHAIKUNSOPON e PHUMKHACHORN, 2010) e como antioxidante (ZHENG et al., 2009).

Com base neste contexto, o trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar o desempenho produtivo de alevinos de tilápia do Nilo, linhagem GIFT, cultivados em água salinizada e alimentados com uma dieta contendo concentrações de OEO, e também a sua influência na composição centesimal, glicemia sanguínea e na morfometria intestinal desses animais.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 O Cenário Atual da Aquicultura

O aumento na demanda por recursos pesqueiros para o consumo humano tem gerado um crescimento na produção aquícola mundial em relação a pesca, principalmente após o início do século XXI, tendo aumentado no período de 2000 até 2016, de 25,7% para 47% no número total de animais aquáticos produzidos destinados para o consumo humano (FAO, 2018).

Essa crescente demanda mundial por alimentos provenientes da aquicultura é justificado pelo aumento da população mundial, pelo aumento da renda, pelos estudos que tem mostrado as qualidades nutricionais que esse produto proporciona e devido a demanda do mesmo não ser suprida apenas com a pesca (FÜLBER et al., 2009). Projeta-se que até 2030, 62% dos peixes destinados ao consumo humano virão da aquicultura (BANCO MUNDIAL, 2013).

A produção mundial de peixes no ano de 2016 foi de cerca de 51,4 milhões de toneladas, no qual 47,5 milhões de toneladas foram oriundas da piscicultura continental, ficando o Brasil como o 8º maior produtor mundial de peixes de água doce, oriundos da aquicultura (FAO, 2018).

Entre as espécies de peixes de água doce cultivadas no Brasil no ano de 2018, a tilápia foi a espécie que apresentou a maior produção, representando em torno de 55,4% da produção de peixes, ou seja, aproximadamente 400.280 toneladas de um total de 722.560 toneladas de pescado, além de ser a espécie que apresentou grande porcentagem de crescimento na produção em relação ao ano anterior, tendo aumentado 11,9% a sua produção em relação a 2017 (PEIXE BR, 2019), demonstrando a importância dos estudos para o aprimoramento do cultivo dessa espécie.

2.2 A Tilapicultura no Brasil

A tilápia é um peixe de água doce e consiste em cerca de 70 espécies dos gêneros *Tilapia*, *Sarotherodon* e *Oreochromis*, pertencentes à família Cichlidae (ciclídeos) (CNAANI e HULATA, 2010) e, mesmo possuindo origem africana, foram transportados para diversas regiões tropicais, subtropicais e temperadas do planeta a partir da década de 1950 (PILLAY e KUTTY, 2005). Originalmente, a introdução da tilápia nessas regiões tiveram como objetivo a pesquisa e o seu cultivo para alimentação humana, como também para o controle de plantas daninhas aquáticas e para pesca recreativa (EL-SAYED, 2006a).

A tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) proveniente da Costa do Marfim foi introduzida no Brasil em 1971, na região nordeste e, desde então, foram levadas para as outras regiões do país (MAINARDES-PINTO et al., 1989), sendo essa espécie escolhida devido a sua tolerância a uma ampla gama de condições ambientais, como temperatura, pH, salinidade, baixo oxigênio dissolvido e amônia; resistência ao estresse, a doenças e a alta densidade de estocagem; alta prolificidade e fácil aceitação de ração após a absorção do saco vitelino (EL-SAYED, 2006a).

A tilápia do Nilo tem se destacado na produção aquícola brasileira, pois é uma espécie com tecnologia de cultivo bem desenvolvida e com potencial para ampliação futura (SARY et al., 2009). O sucesso na produção dessa espécie se deve a sua adaptação aos diversos sistemas de cultivo; seu rápido desenvolvimento; pelo processo de reprodução simples, sendo capaz de se reproduzir em cativeiro; por possuir hábito

alimentar onívoro, podendo se alimentar de itens básicos da cadeia trófica e pela boa conversão alimentar (FURUYA, 2010).

Essas características aumentaram a importância do cultivo da tilápia do Nilo, dando início a programas de melhoramento genético da mesma, se destacando a linhagem GIFT (Genetically Improved Farmed Tilapia), que chegou ao Brasil em 2005, sendo fruto de um intenso melhoramento genético iniciado a partir de uma grande base genética de linhagens selvagens e de criação (SCORVO FILHO et al., 2010).

2.3 A Produção de Tilápias do Nilo em Água Salinizada

Em razão da escassez de água doce no mundo, existe uma tendência para o cultivo de espécies de peixes de água doce, como a tilápia do Nilo, em água salinizada (EL-SAYED, 2006b), pois por ser um peixe eurialino, possui alta capacidade para se adaptar a este tipo de ambiente (KÜLTZ, 2015). O fato da tilápia possuir ancestrais de origem marinha, que em algum momento adentraram em água doce, explicaria essa capacidade da espécie em tolerar ambientes que possuem variação de salinidade (BARLOW, 2000).

Uma vantagem nesse procedimento é a oportunidade de cultivar a tilápia em regiões com falta de água doce, como a região nordeste, na qual já existem estudos que comprovam a eficiência do cultivo dessa espécie em efluentes de dessalinizadores, que geram água potável para a região e, como não se tinha aproveitamento dos resíduos gerados, provocavam impacto ambiental (OLIVEIRA e SANTOS, 2015). Outra vantagem é a possibilidade de produção integrada com espécies marinhas como o camarão, sem que ocorra competição pelos mesmos recursos, pois eles possuem nichos tróficos diferentes, aumentando assim a produtividade do setor (JUNIOR et al. 2012).

Alterações da salinidade da água podem ocasionar estresse ao peixe devido à mudanças na homeostase e com os processos fisiológicos normais (KÜLTZ, 2015). A osmorregulação é importante para o processo de homeostase, sendo as brânquias e o trato gastrointestinal órgãos que possuem função importante nesse processo, devido a interação com o meio externo (BAYSOY et al., 2013). Em ambiente altamente iônico e hiperosmótico, os peixes perdem água e obtém sal, e para a sua aclimatação precisam absorver, com gasto de energia, o sal e a água através do trato gastrointestinal, na qual a água é retida no corpo e o excesso de sal é liberado pelas brânquias (LI et al., 2014).

Mesmo que grande parte das espécies de tilápia possam ser adaptadas ao cultivo em água salinizada, alguns fatores podem debilitar o desenvolvimento e até a sobrevivência desse animal a esta condição de cultivo, como a temperatura, método de aclimatação, idade e tamanho dos animais (SURESH e LIN 1992). Logo, o processo de salinização da água de cultivo deve ser gradual, com adição de sais variando de 2 a 8 g L⁻¹ dia⁻¹, assim permitindo que os peixes ativem seus mecanismos osmorregulatórios para resistir à elevada salinidade, para um limite de tolerância variando entre 20 a 22 g L⁻¹ (LEMARIÉ et al. 2004).

O cultivo de tilápias do Nilo em faixas mais elevadas de temperatura (28 a 32°C), combinados com uma salinidade variando entre 0 e 12 g L⁻¹, pode resultar em um desenvolvimento mais rápido dos alevinos de tilápia, quando comparados com cultivos em salinidades maiores, obtendo o melhor desempenho dos animais em ambientes com até 8 g L⁻¹ de sal, uma vez que acima disso, a salinidade pode prejudicar o uso dos nutrientes para o crescimento dos alevinos, por causa da energia gasta para mantê-lo em um ambiente fora de sua homeostase (LIKONGWE et al., 1996), levando os animais a terem uma diminuição no ganho de peso, na conversão alimentar e até na sua sobrevivência (DE AZEVEDO et al., 2015).

2.4 O Aumento no Uso de Aditivos na Produção Aquícola

Com a crescente intensificação da aquicultura, devido à maior demanda por pescado, houve aumento da densidade de cultivo dos peixes (JEFFERY et al., 2010), com a finalidade de diminuir os custos operacionais, afim de garantir a rentabilidade e a sustentabilidade da criação (EL-HAWARRY et al., 2018).

Contudo, esse processo torna os animais vulneráveis ao estresse, podendo causar gradativa diminuição do crescimento (LEMOS et al., 2018) e aumentar a sua susceptibilidade a doenças (GARCIA et al., 2013), à medida que se aumenta a densidade de cultivo dessa espécie nas estruturas de criação (JEFFERY et al., 2010), o que leva ao uso indevido de antibióticos que geram complicações de segurança alimentar e de proliferação de bactérias resistentes, além de elevar o custo desses produtos (HARIKRISHNAN et al., 2011).

Os antibióticos são amplamente utilizados na produção animal, principalmente para o tratamento de animais doentes e prevenção de doenças entre animais suscetíveis a infecções, promovendo maior desempenho produtivo dos mesmos (HONG et al., 2012). No entanto, o uso excessivo de antibióticos provoca o aumento na seleção de populações de microrganismos resistentes, que possuem genes de resistência a determinados compostos (CARNEIRO et al., 2007).

Esses mesmos autores realizaram um estudo na qual foi avaliado o perfil de susceptibilidade a antimicrobianos de bactérias isoladas em diferentes sistemas de cultivo de tilápia do Nilo e observaram um elevado número de bactérias com resistência simultânea a dois ou mais antimicrobianos, o que justifica a preocupação com relação ao consumo de alimentos de origem animal.

Visando garantir a qualidade e segurança dos alimentos de origem animal, a partir de Janeiro de 2006 a União Europeia proibiu a utilização de antibióticos e quimioterápicos como melhoradores de desempenho na produção (EC, 2003). Como consequência, ocorreram perdas econômicas na produção pecuária, pela diminuição no desempenho, absorção de nutrientes e saúde intestinal dos animais, aumentando a susceptibilidade de colonização por patógenos e a contaminação dos produtos para consumo humano (FERKET et al., 2005).

Diante disso, surge a necessidade de buscar compostos alternativos que poderiam ser utilizados nas dietas, melhorando a função imune e digestiva dos animais, logo, melhorando o desempenho dos mesmos (ZAVARIZE et al., 2010). Neste contexto, os aditivos passaram a ser utilizados na nutrição animal objetivando o máximo desempenho produtivo, levando em consideração o seu bem-estar, não deixando resíduos nos produtos de consumo e nem contaminando o meio ambiente (CATALAN et al., 2012).

Os aditivos utilizados na nutrição animal podem ser classificados de acordo com suas propriedades e funções, sendo incluídos em uma ou mais categorias, tais como: tecnológicos, sensoriais, nutricionais, zootécnicos e anticoccidianos, sendo os aditivos zootécnicos todas as substâncias que são adicionadas a ração com finalidade de aperfeiçoar o desempenho dos animais, melhorando os parâmetros de produtividade sem deixar resíduo no produto de consumo (Instrução Normativa nº 13/2004, MAPA).

Os aditivos são conhecidos como ingredientes não-nutritivos ou componentes não-nutritivos de ingredientes que são incluídos nas formulações para influenciar propriedades físicas ou químicas da dieta ou melhorar o desempenho produtivo ou a qualidade dos produtos resultantes (BARROWS e HARDY, 2000)

Dentro do grupo de substâncias que podem ser classificadas como aditivos zootécnicos, temos os aditivos fitogênicos, também conhecidos por fitoterápicos,

fitobióticos ou nutracêuticos. Esses compostos são definidos como substâncias provenientes de plantas, como ervas, especiarias, óleos essenciais e oleorresinas, que podem ser acrescentados na dieta, atuando como potenciais promotores de crescimento e saúde, aumentando o desempenho produtivo dos animais e consequentemente aumento da qualidade dos produtos de origem animal, devido a melhoria das propriedades da ração (WINDISCH et al., 2008).

Os compostos bioativos contidos nesses aditivos possuem funções distintas, também conhecidos como alimentos funcionais, pois além de possuir seus efeitos nutricionais, podem atingir de maneira positiva outras funções no organismo, melhorando tanto a saúde, quanto o bem-estar desses animais, diminuindo os riscos de enfermidades e, como são apresentados na forma de alimentos comuns, podem ser consumidos em dietas convencionais (OLIVEIRA et al., 2002).

2.5 O Uso dos Óleos Essenciais

Os óleos essenciais são obtidos de extratos vegetais, que são denominados como “preparações concentradas, de diversas consistências possíveis, que passaram ou não por tratamento prévio (inativação enzimática, moagem, etc.) e preparadas por processos envolvendo um solvente” (EXTRATOS VEGETAIS, 2010), sendo formado por uma mistura complexa de compostos lipofílicos voláteis (TEIXEIRA et al., 2013), presentes em muitos tecidos vegetais, onde a principal função é proteger a planta contra as bactérias e parasitas (JANCZYK et al., 2009).

Os óleos essenciais se destacam por possuírem uma boa disponibilidade, sendo produzidos em larga escala para fins terapêuticos e culinários, possuem boa biodegradabilidade, ocasionando um menor impacto ao meio ambiente e a saúde humana, além de possuírem baixa toxicidade (KALEMBA e KUNICKA, 2003).

Esses óleos são extraídos principalmente pelo processo de destilação a vapor (WINDISCH et al., 2008), seus constituintes, conhecidos como metabólitos secundários, incluem hidrocarbonetos terpênicos, álcoois simples, fenóis, aldeídos, cetonas, ésteres e ácidos orgânicos, podendo ser encontrados em diferentes concentrações nas plantas e possuindo geralmente um composto farmacologicamente ativo majoritário (BONA et al., 2012). Tais compostos, cuja ação farmacológica é conhecida, são responsáveis pela ação terapêutica do produto final, sendo denominados como princípios ativos das plantas (FERNANDES et al., 2015).

Um mesmo princípio ativo pode ser encontrado em diferentes espécies de plantas, em concentrações distintas (BONA et al., 2012). Diversos fatores podem modificar a concentração dos princípios ativos e, consequentemente, a ação dos óleos essenciais nas dietas, como a parte da planta utilizada, época de colheita, origem geográfica, método de extração, espécie, estágio de desenvolvimento da planta, fatores ecológicos, condições climáticas e principalmente a forma como esse princípio é metabolizado e o nível de inclusão do mesmo na dieta (BARRETO et al., 2008; WINDISCH et al., 2008; MATHÉ, 2009).

Uma vantagem na utilização dos óleos essenciais é facilidade de manipulação e inclusão do mesmo em dietas, de forma semelhante a outros ingredientes da ração, sendo sua principal desvantagem a fácil volatilidade (OUWEHAND et al., 2010). Com isso, pode ser usado nas indústrias alimentícia e farmacêutica, devido as suas características benéficas como promotor de crescimento, estimulador da digestão e da microbiota intestinal e por possuir efeitos imunomoduladores, antioxidantes e antibacterianos, sendo capaz de ser um substituto aos antibióticos tradicionais (ZENG et al., 2015).

Uma função relacionada ao uso dos óleos essenciais é com relação a morfometria intestinal (ZEPPENFELD et al., 2016). O intestino é um órgão que possui grande importância na produção animal, pois age na digestão e assimilação de nutrientes (VALLADÃO et al., 2017). Além disso, a integridade epitelial é importante para a prevenção de doenças infecciosas, agindo como uma barreira intestinal (NICHOLSON et al., 2012), favorecendo a proliferação de bactérias benéficas no intestino, como *Lactobacillus* e *Bifidobactéria*, que auxiliam no crescimento e maturação das vilosidades intestinais (MOHAMED, et al., 2014). O epitélio também funciona como uma barreira que evita a passagem de compostos nocivos para dentro do lúmen intestinal, como antígenos e outras toxinas (SUNDH e SUNDELL, 2015).

A suplementação com óleos essenciais pode aumentar as vilosidades do duodeno e do jejuno em frangos (CHOWDHURY et al., 2018), gerando uma maior área de absorção. O maior desenvolvimento do epitélio intestinal promove maior absorção de nutrientes e, conseqüentemente, melhor aproveitamento dos alimentos, aumentando os parâmetros de desempenho produtivo desses animais (MOHAMED, et al., 2014).

Trabalhos recentes realizados com jundiá (*Rhamdia quelen*) e tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) corroboram com a eficácia do uso de óleos essenciais desses aditivos no desenvolvimento do epitélio intestinal em peixes (ZEPPENFELD et al., 2016; VALLADÃO et al., 2017), porém mais estudos devem ser realizados para confirmar o efeito dos óleos essenciais, principalmente para peixes de água doce em ambientes salinizados, pois como o intestino está em contato direto com a água do ambiente, pode sofrer alterações morfológicas sob este tipo de desafio ambiental, comprometendo o processo digestivo (TRAN-NGOC et al., 2017).

2.6 A Utilização do Óleo Essencial de Orégano na Produção Animal

A família Lamiaceae é formada por inúmeras espécies que sintetizam óleos essenciais, como alecrim (*Rosmarinus officinalis*), manjeriço (*Ocimum basilicum*), tomilho (*Thymus vulgaris*) e orégano (*Origanum* sp.), contendo grande variedade de princípios ativos nesse grupo (LIMA e CARDOSO, 2013).

O *Origanum vulgare* é a espécie mais conhecida de orégano, nativa da região do mediterrâneo e hoje é uma das especiarias mais comercializadas e consumidas no mundo (LUKAS et al., 2015). Sendo muito cultivada no Brasil, com grande uso na culinária e também na medicina popular em função de sua ação digestiva (LORENZI e MATOS, 2008) sendo caracterizada por ser uma planta herbácea, bastante ramificada, perene e de hastes arroxeadas, atingindo de 30 a 50 cm de altura (COSTA, 2009).

O princípio ativo principal do OEO é o carvacrol, fenol não cristalizável, cujo teor varia geralmente de 40% a 70%, ainda apresentando concentrações consideráveis de timol, cineol, terpineno, canfeno, limoneno, felandreno, p-cimeno e cariofileno (LORENZI e MATOS, 2008). O carvacrol e o timol podem ser adicionados as dietas como compostos dos óleos essenciais ou individualmente extraídos do mesmo, sendo que, caso utilizados diretamente na água, o carvacrol e o timol podem agir como sedativo e anestésico e em altas dosagens o carvacrol pode se tornar tóxico (BIANCHINI et al., 2017).

Vários estudos envolvendo o uso do OEO já foram realizados em animais monogástricos destinados a produção, contudo, em alguns casos é difícil observar alguma melhoria nos parâmetros de crescimento, sendo dependente do tipo e origem do OEO utilizado, espécie e idade dos animais, entre outras condições.

Antes mesmo de serem iniciados experimentos com adição de OEO na área de aquicultura, já foram realizados testes em aves e suínos, na qual já foi demonstrado os efeitos positivos da adição do óleo na dieta como melhoradores de desempenho (FOTEA et al., 2009; ROOFCHAEI et al., 2011; ROSSI e SOARES, 2013), digestibilidade (MITSCH et al., 2004; JANG et al., 2007) e imunidade (SANTURIO et al., 2007; TOGHYANI et al., 2010; DIAS et al., 2015) dos animais.

Por outro lado, alguns estudos não observaram efeitos no crescimento quando há a suplementação de OEO em dietas fornecidas para aves e suínos (FUKAYAMA et al., 2005; OETTING et al., 2006; BARRETO et al., 2008; SILVA et al., 2009; TSINAS et al., 2011), o que evidenciam a importância da realização de maiores estudos para verificar a real efetividade do OEO adicionado na dieta para essas espécies.

Alguns trabalhos realizados com peixes também mostraram algumas propriedades e benefícios da inclusão do OEO ou dos seus principais componentes nas dietas para diferentes espécies, sejam como melhoradores de desempenho e digestibilidade (AHMAD et al., 2009; AHMADIFAR et al., 2011; GABOR et al., 2012; FERREIRA et al., 2014; EL-HAWARRY et al., 2018) e imunidade (ZHENG et al., 2009; RATTANACHAIKUNSOPON e PHUMKHACHORN, 2010; GIANNENAS et al., 2012; VOLPATTI et al., 2013; POURMOGHIM et al., 2015; MIZUNO et al., 2018) dos animais.

Porém, outros trabalhos encontrados na literatura não verificaram efeitos significativos na suplementação de OEO na dieta fornecida para espécies de peixes (CAMPAGNOLO et al., 2013; FRECCIA et al., 2014; KANASHIRO, 2015; YILMAZ et al., 2015; CARARO et al., 2017).

O desempenho produtivo e a saúde dos peixes estão diretamente relacionados as interações que ocorrem entre a microflora intestinal, a morfometria da mucosa gastrointestinal, os níveis bioquímicos do sangue e a absorção de nutrientes (SANTOS et al., 2009). Logo, esses diferentes resultados comprovam a importância da realização de estudos com o objetivo de avaliar a real efetividade da suplementação da dieta com OEO, que apresenta potencial para otimização do desempenho produtivo de espécies de interesse para a aquicultura, como no caso da tilápia do Nilo, cultivada em água salinizada.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Local do Experimento

O experimento foi realizado na Estação de Biologia Marinha (EBM) (Figura 1) do Instituto de Zootecnia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, localizada em Itacuruçá, no município de Mangaratiba, RJ (latitude 22°54'06'' e longitude 43° 33' 42''), autorizado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA/UFRRJ/IZ), no processo n° 0017-08-2018.



Figura 1. Estação de Biologia Marinha (EBM): (A) Vista de frente; (B) Vista externa da área experimental.

3.2 Animais e Manejo Inicial

Os alevinos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) linhagem GIFT, com um total de 1.200 machos invertidos, foram recebidos no local de experimento, oriundos da FIPERJ (Fundação Instituto de Pesca do Estado do Rio de Janeiro, Centro de Treinamento em aquicultura Sul-Fluminense, Rio das Flores, Rio de Janeiro, Brasil), com 45 dias de idade, onde foram acondicionados em um sistema estático, em dois tanques de polietileno de 500 L com água doce por um período de sete dias para aclimação e quarentena, com temperatura média de 26°C e aeração constante. O tanque foi coberto com uma tela de proteção para minimizar o estresse dos animais. Durante esse período, os peixes foram alimentados duas vezes ao dia (09 e 15 horas) com a dieta controle, ou seja, sem adição do OEO.

Após esse período, foi iniciado o processo de salinização gradual da água, com a adição diária de água do mar de clorada (34 g L⁻¹ de salinidade), até a salinidade no tanque aumentar 2 g L⁻¹ dia⁻¹, chegando a 10 g L⁻¹ (cinco dias) (LEMARIÉ et al. 2004).

Posteriormente, os animais foram submetidos a uma primeira biometria para obtenção do peso e comprimento inicial (1,47±0,39 g e 4,16±0,43 cm, respectivamente), e distribuídos em vinte tanques de polietileno de 100 L (Figura 2), usando o volume útil de 60 L de água salinizada a 10 g L⁻¹, na densidade de 1 tilápia/ 2L, totalizando 30 tilápias por tanque, dando início ao experimento, que durou ao todo 64 dias.

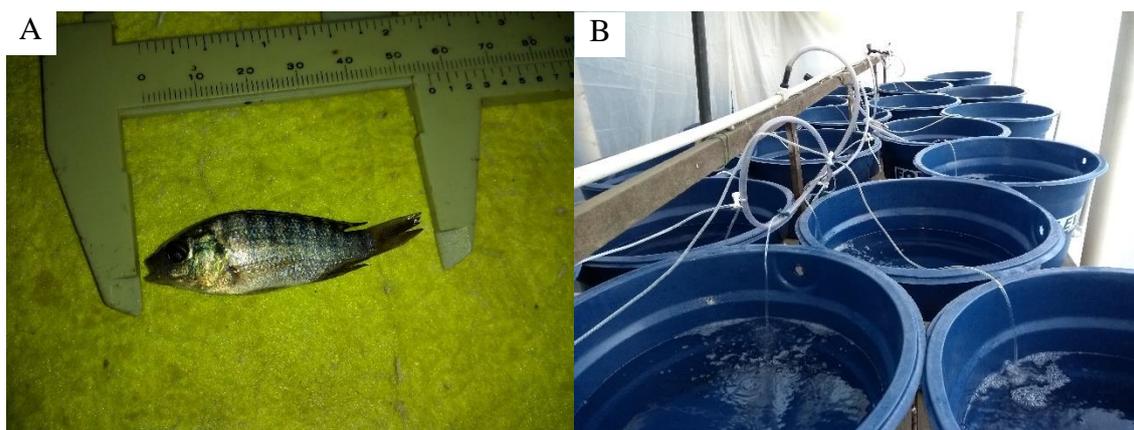


Figura 2. Manejo inicial: (A) Medição dos animais para aferição da biometria inicial; (B) Disposição dos tanques utilizados durante o experimento.

3.3 Delineamento Experimental e Tratamentos

O experimento foi desenvolvido em um delineamento casualizado, com cinco tratamentos e quatro repetições, onde foi utilizada uma dieta comercial (Nutripiscis TR 36[®]) sem a inclusão do OEO no tratamento controle (0 g kg^{-1}) e outras quatro dietas com níveis crescente de inclusão ($0,75$; $1,5$; $2,25$ e 3 g kg^{-1}) de OEO à ração comercial.

Em todos os tratamentos, a ração foi farelada, acrescida de OEO (quando necessário e nas suas respectivas concentrações) e de água destilada, onde foi feita a mistura por alguns minutos até apresentar uma textura adequada. A massa homogênea resultante foi passada em um moedor de carne, através de uma matriz com abertura de 3 mm. Os pellets resultantes foram secos em estufa de ventilação forçada a 55°C durante 8 horas. Após secagem, as dietas foram trituradas e peneirados para separação dos grânulos com tamanhos entre 1 e 2 milímetros, embalados e armazenados em freezer a -20°C até sua utilização (Figura 3). Para evitar o manuseio frequente das dietas armazenadas sob congelamento, quantidades suficientes para uso em uma semana eram armazenadas em frascos plásticos, os quais eram mantidos sob refrigeração (4°C). Amostras de cada dieta foram coletadas para análise da composição centesimal (Tabela 1).

A dieta experimental foi ofertada quatro vezes por dia (08, 11, 14 e 17h) *ad libidum*. O recipiente contendo a ração foi pesado antes e após o fornecimento para o cálculo do consumo diário.

Tabela 1. Composição centesimal das dietas experimentais (g/kg da matéria seca).

Composição química da dieta fornecida	Níveis de inclusão				
	Óleo essencial de orégano (g/kg)				
	0,0	0,75	1,5	2,25	3,0
Umidade (g/kg) ¹	86,43	85,37	86,42	84,39	87,85
Proteína Bruta (g/kg) ^{1,2}	352,31	348,18	347,61	351,82	346,97
Extrato etéreo (g/kg) ¹	85,42	84,68	84,97	85,70	84,87
Matéria mineral (g/kg) ¹	84,67	83,87	84,09	84,25	83,95
Carvacrol (mg/kg) ³	0,0	0,573	1,147	1,721	2,295
Timol (mg/kg) ³	0,0	0,032	0,064	0,096	0,129
ρ -Cimeno (mg/kg) ³	0,0	0,030	0,060	0,090	0,120
γ -Terpineno (mg/kg) ³	0,0	0,024	0,048	0,072	0,096
1,8-Cineol (mg/kg) ³	0,0	0,005	0,010	0,015	0,021
Canfeno (mg/kg) ³	0,0	0,008	0,016	0,024	0,033
Cariofileno (mg/kg) ³	0,0	0,011	0,022	0,033	0,045
Felandreno (mg/kg) ³	0,0	0,009	0,018	0,027	0,036
Limoneno (mg/kg) ³	0,0	0,010	0,021	0,031	0,042

¹Análises realizadas no Laboratório de Bromatologia do Departamento de Nutrição Animal e Pastagens (IZ/UFRRJ), de acordo com Silva e Queiroz (2002). Ingredientes: farelo de arroz, farelo de soja, farelo de trigo, farinha de carne e ossos, farinha de peixe, farinha de sangue, farinha de vísceras, milho integral moído, óleo de soja degomado, cloreto de sódio, calcário calcítico, sulfato de ferro, monóxido de manganês, óxido de zinco, sulfato de cobre, sulfato de cobalto, iodato de cálcio, selenito de sódio.

² Segundo os dados do fabricante, o nível de PB eram de no mínimo 360,00 g/kg.

³LASZLO® Aromaterapia Ltda., Belo Horizonte/MG. (Composição: Carvacrol: 76,5%; Timol: 4,3%; ρ -Cimeno: 4,0%; γ -Terpineno: 3,2%; 1,8-Cineol: 0,7%; Canfeno: 1,1%; Cariofileno: 1,5%; Felandreno: 1,2%; Limoneno: 1,4%). Valores calculados de acordo com a composição química do óleo essencial de orégano apresentada pelo fabricante.



Figura 3. Preparação das dietas: (A) Peletização das dietas; (B) Estufa para secagem da ração; (C) Equipamento pra trituração dos pellets formados.

3.4 Qualidade da Água e Ambiente Experimental

O experimento foi realizado em um sistema semi-estático, em uma estufa para evitar interferência externa (chuva, vento, predadores) e manutenção da temperatura da água constante, possuindo iluminação natural auxiliada por lâmpadas, conferindo fotoperíodo relativo de dez horas luz/quatorze horas escuro. A renovação parcial da água (70%) ocorreu a cada quatro dias, adicionando água salinizada a 10 g L^{-1} a cada troca.

A temperatura, pH e oxigênio dissolvido foram monitorados diariamente com uso do medidor multiparâmetro Akso[®], modelo AK88 e mantiveram-se em $27,9 \pm 0,12^\circ\text{C}$, $8,09 \pm 0,13$ e $5,4 \pm 0,14 \text{ mg/L}$, respectivamente. A salinidade foi mensurada diariamente com o uso de refratômetro de salinidade Instrutherm[®] (modelo RTS-101ATC) e manteve-se constante em 10 g L^{-1} (Figura 4). Já amônia total, nitrito e alcalinidade, foram monitorados semanalmente com os kits comerciais colorimétricos Labcon Test Amônia[®], Labcon Test Nitrito[®] e Alkalinity Test Kit Red Sea[®], e mantiveram-se respectivamente em $0,083 \pm 0,036 \text{ mg/L}$, $0,52 \pm 0,12 \text{ mg/L}$ e $55,09 \pm 15,25 \text{ mg/L}$.



Figura 4. Equipamentos utilizados para análise de água: (A) Multiparâmetro Akso® e (B) refratômetro de salinidade Instrutherm® utilizados ao longo do experimento.

3.5 Avaliação do Desempenho Zootécnico e Fisiológico

Ao final do experimento, os animais foram mantidos em jejum por 24 horas. Após esse período, os mesmos foram anestesiados com solução de benzocaína (100 mg L⁻¹) e contabilizados para obter o número de sobreviventes, pesados para obter o peso total/tanque. Uma amostra de seis animais por repetição foram pesados e medidos individualmente e amostras de sangue de cinco peixes de cada tratamento foram coletadas para quantificação da glicose, para avaliar se a adição do óleo interfere nessa reserva energética. Para isso, foi usado o medidor Freestyle Optium Neo® (Figura 5), tendo o sangue coletado via punção da veia caudal com seringas heparinizadas.

Para a necropsia dos animais, foi usada uma superdose de benzocaína (500 mg L⁻¹), e posteriormente foram coletados o fígado e as vísceras de cinco tilápias por tanque e pesadas para determinação do Índice Hepatosomático (IHS) e Índice Viscerosomático (IVS), respectivamente.

O desempenho dos alevinos de tilápia do Nilo foi avaliado considerando os seguintes parâmetros:

$$\text{Sobrevivência (S)} = (\text{número final de peixes} / \text{número inicial de peixes}) \times 100$$

$$\text{Ganho de peso (GP) (g)} = \text{peso biomassa final} - \text{peso biomassa inicial}$$

$$\text{Taxa de Conversão alimentar aparente (TCAA)} = \text{ração fornecida} / \text{ganho de peso}$$

$$\text{Taxa de Eficiência Alimentar (TEA)} = \text{ganho de peso} / \text{ração fornecida}$$

$$\text{Taxa de Crescimento Específico (TCE) (\% \text{ dia}^{-1})} = [(\ln \text{ peso final} - \ln \text{ peso inicial}) / \text{dias de experimento}] \times 100$$

$$\text{Taxa de Eficiência Proteica (TEP)} = \text{ganho de peso (g)} / \text{proteína ingerida (g)}$$

$$\text{Índice Hepatosomático (IHS) (cinco amostras de fígados / tanque)} = (\text{Peso do fígado} / \text{Peso corporal}) \times 100$$

$$\text{Índice Viscerosomático (IVS) (cinco amostras de vísceras / tanque)} = (\text{Peso das vísceras} / \text{Peso corporal}) \times 100$$



Figura 5. Etapas pré-eutanásia: (A) Medição de glicose com medidor Freestyle Optium Neo®; (B) Pesagem individual de amostras de tilápias.

3.6 Composição Proximal

Para determinar a composição proximal, foram utilizados aproximadamente 100 g de peixes inteiros de cada tanque e as análises foram realizadas no Laboratório de Bromatologia do Departamento de Nutrição Animal e Pastagens do Instituto de Zootecnia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, de acordo com a metodologia de Silva e Queiroz (2002), onde, brevemente, a umidade foi estimada após secagem do material em estufa de ventilação forçada a 105°C durante 12 horas; matéria mineral foi obtida após a queima em forno mufla a 600°C durante 5 horas; extrato etéreo obtido por meio do extrator de Soxhlet utilizando éter de petróleo como solvente, durante 12 horas (Figura 6); proteína bruta pelo método de Kjeldahl, usando o fator de multiplicação de 6,25; e carboidratos foi estimado através da subtração de 100% da amostra pelos resultados dos itens citados acima.

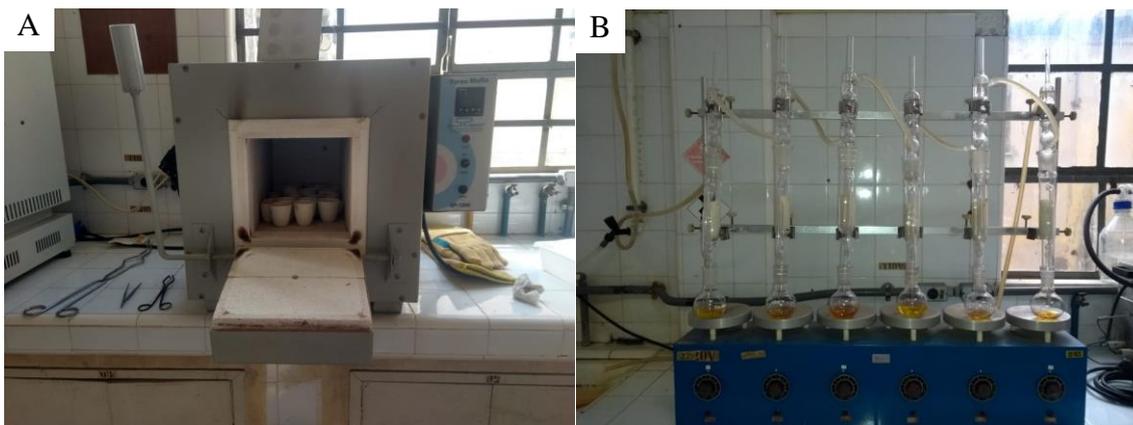


Figura 6. Algumas etapas da análise de composição centesimal: (A) Amostras dentro de forno mufla para determinação de matéria mineral; (B) Amostras dentro do extrator de Soxhlet para determinação de extrato etéreo.

3.7 Morfometria Intestinal

Foram coletadas amostras teciduais de aproximadamente 2 cm da porção inicial do intestino proximal de cinco peixes de cada tanque (vinte por tratamento) logo após a eutanásia. O material coletado foi fixado em formalina tamponada a 20% e levado para o Laboratório de Imunologia e Patologia de Organismos Aquáticos (LIPOA) da Universidade Federal do Rio Grande/RS, onde foi submetido ao processamento histológico clássico (processador automático Leica TP1020[®]), sendo embebido em Paraplast[®] e cortado em seções de 5 μ em micrótomo (Leica RM2245[®]) (Figura 7). Posteriormente, os tecidos foram corados com hematoxilina e eosina.

As lâminas foram levadas para o Laboratório de Bioimagens do departamento de Parasitologia Animal do Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro para observação em microscópio óptico (OLYMPUS BX51[®]), tendo as imagens ampliadas em lentes de 100 μ m para as medidas de altura e espessura das vilosidades e 200 μ m para altura do enterócitos, na qual as imagens eram obtidas através de um sistema de captura (OLYMPUS UC30[®]) e medidas usando o software OLYMPUS cellSens Standard 2.1[®] (Figura 7). O critério para seleção de vilosidades foi baseado na presença de lâmina própria intacta, tendo os parâmetros medidos de acordo com o protocolo sugerido por Peng et al. (2013); Ferreira et al. (2016) e Chowdhury et al. (2018).

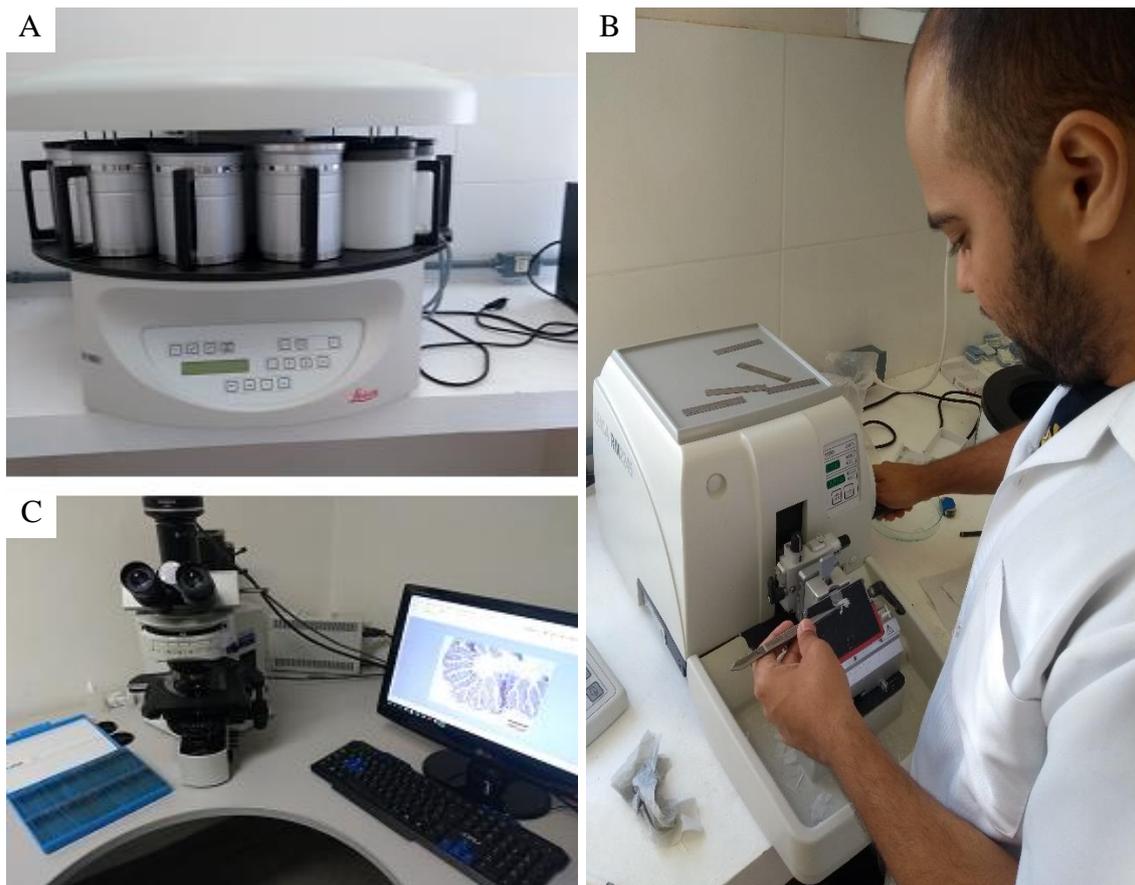


Figura 7. Etapas do processo de morfometria intestinal: (A) Processador automático Leica TP1020[®]; (B) Corte em secções de 5µ no micrótomo Leica RM2245[®]; (C) Microscópio óptico OLYMPUS BX51[®], lente para captura de imagens OLYMPUS UC30[®] e software OLYMPUS cellSens Standard 2.1[®].

3.8 Análises Estatísticas

Os dados obtidos para os parâmetros de desempenho zootécnico, glicemia, qualidade da água, composição centesimal e morfometria intestinal foram submetidos aos testes de Shapiro-Wilks e Barlett para verificar a normalidade e a homocedasticidade dos dados. Além disso, os valores percentuais sofreram transformação para arco cosseno para as análises estatísticas. Posteriormente, os dados foram submetidos à análise de variância e quando identificadas diferenças entre as médias, foi aplicado o teste Tukey, a 5% de probabilidade para as variáveis de desempenho zootécnico, glicemia sanguínea e composição centesimal. Já para as variáveis de morfometria intestinal, foi aplicado o teste de Duncan, a 5% de probabilidade. As análises foram realizadas através do software SAS versão 9.0 (SAS, 2008).

4 RESULTADOS

4.1 Desempenho Zootécnico e Fisiológico

Os valores de desempenho zootécnico, a partir da utilização de diferentes concentrações de OEO (0; 0,75; 1,5; 2,25; 3,0 g/kg) na dieta de alevinos de tilápia do Nilo, apresentaram diferenças significativas ($p < 0,05$) (Tabela 2) em alguma variáveis de desempenho zootécnico.

No presente trabalho, o tratamento com a inclusão de $1,5 \text{ g kg}^{-1}$ de OEO foi o único que obteve resultados estatisticamente piores para ganho de peso, taxa de conversão alimentar aparente, taxa de eficiência alimentar e taxa de eficiência proteica. Não houve efeito significativo para os demais índices zootécnicos e para o nível de glicemia sanguínea.

4.2 Composição Centesimal

Os resultados da análise da composição centesimal dos alevinos de tilápia do Nilo encontram-se sumarizados na Tabela 3. As diferentes concentrações de OEO na dieta não influenciaram os níveis de matéria seca, proteína bruta, extrato etéreo, matéria mineral e carboidratos dos peixes ao final do experimento.

4.3 Morfometria Intestinal

Com relação à morfometria intestinal, a partir da utilização de diferentes concentrações de OEO na dieta de alevinos de tilápia do Nilo, houveram diferenças significativas ($p < 0,05$) nos resultados obtidos para a variável altura das vilosidades (Figura 8), conforme se encontram apresentadas na Tabela 4, na qual o tratamento com a inclusão de $3,0 \text{ g kg}^{-1}$ de OEO obteve os melhores efeitos para essa análise. Os resultados para espessura das vilosidades e altura do enterócito não foram alterados em nenhum tratamento.

Tabela 2. Desempenho zootécnico e nível de glicemia sanguínea dos alevinos de tilápia do Nilo alimentados com dietas contendo diferentes concentrações de OEO.

Parâmetros avaliados ¹	Níveis de OEO na dieta (g/kg)					P Valor
	0,0	0,75	1,5	2,25	3,0	
S (%)	98,35±1,90	100±0,00	95,87±3,15	99,17±1,65	98,35±3,30	0,1920
GP (g)	258,44±15,79 ^{ab}	287,39±29,94 ^a	239,89±22,46 ^b	243,32±20,91 ^{ab}	275,14±19,99 ^{ab}	0,0300
CT (g)	333,65±23,41	353,46±34,24	341,12±24,18	330,77±21,56	347,65±22,68	0,7000
TCAA	1,29±0,06 ^{ab}	1,23±0,09 ^a	1,42±0,06 ^b	1,36±0,04 ^{ab}	1,26±0,10 ^{ab}	0,0200
TEA	0,77±0,03 ^{ab}	0,81±0,06 ^a	0,70±0,03 ^b	0,73±0,02 ^{ab}	0,79±0,06 ^{ab}	0,0280
TCE (%)	3,78±0,33	3,93±0,24	4,04±0,41	3,97±0,08	3,91±0,13	0,7483
TEP	2,15±0,10 ^{ab}	2,26±0,16 ^a	1,95±0,08 ^b	2,04±0,07 ^{ab}	2,20±0,18 ^{ab}	0,0200
IHS (%)	1,74±0,16	1,58±0,32	1,75±0,13	1,80±0,31	2,00±0,36	0,3460
IVS (%)	12,56±1,66	14,17±1,92	11,49±0,91	11,85±1,23	12,65±1,72	0,1820
GS (mg dL ⁻¹)	32,30±2,41	37,50±4,43	42,25±21,07	36,70±8,53	39,35±16,39	0,8500

S (sobrevivência); GP (ganho de peso); CT (consumo total); TCAA (taxa de conversão alimentar aparente); TEA (taxa de eficiência alimentar); TCE (taxa de crescimento específico); TEP (taxa de eficiência proteica); IHS (índice hepatossomático); IVS (índice viscerossomático); GS (glicemia sanguínea).

¹Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa por ANOVA e teste de Tukey (P<0,05).

Tabela 3. Composição centesimal de alevinos de tilápia do Nilo alimentados com dietas contendo diferentes concentrações de OEO.

Composição centesimal (%) ¹	Níveis de OEO na dieta (g/kg)					P Valor
	0,0	0,75	1,5	2,25	3,0	
Umidade	74,51±2,78	75,48±4,24	77,13±1,04	75,28±2,19	73,19±0,59	0,3785
Proteína bruta	12,42±1,46	12,34±1,75	11,63±0,83	12,00±1,78	13,27±0,37	0,5440
Extrato etéreo	7,64±0,73	6,66±0,84	6,82±0,91	6,23±0,72	7,13±1,15	0,2800
Matéria mineral	3,92±0,52	3,81±0,38	3,44±0,23	3,71±0,40	4,23±0,15	0,0870
Carboidratos	1,50±0,33	1,69±1,41	0,96±1,29	2,74±0,42	2,16±0,83	0,2438

¹Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa por ANOVA e teste de Tukey (P<0,05).

Tabela 4. Parâmetros intestinais de alevinos de tilápia do Nilo alimentados com dietas contendo diferentes concentrações de OEO.

Parâmetros intestinais (µm) ¹	Níveis de OEO na dieta (g/kg)					P Valor
	0,0	0,75	1,5	2,25	3,0	
Altura das Vilosidades	265,06±12,69 ^c	299,62±9,16 ^b	296,10±22,48 ^b	307,63±19,22 ^b	334,29±20,04 ^a	0,0010
Espessura das Vilosidades	114,14±1,73	120,03±2,81	116,92±4,32	118,54±4,10	121,22±2,73	0,0616
Altura dos Enterócitos	37,08±3,66	40,47±5,68	39,81±4,77	41,76±3,72	39,53±1,97	0,6163

¹Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa por ANOVA e teste de Duncan (P<0,05).

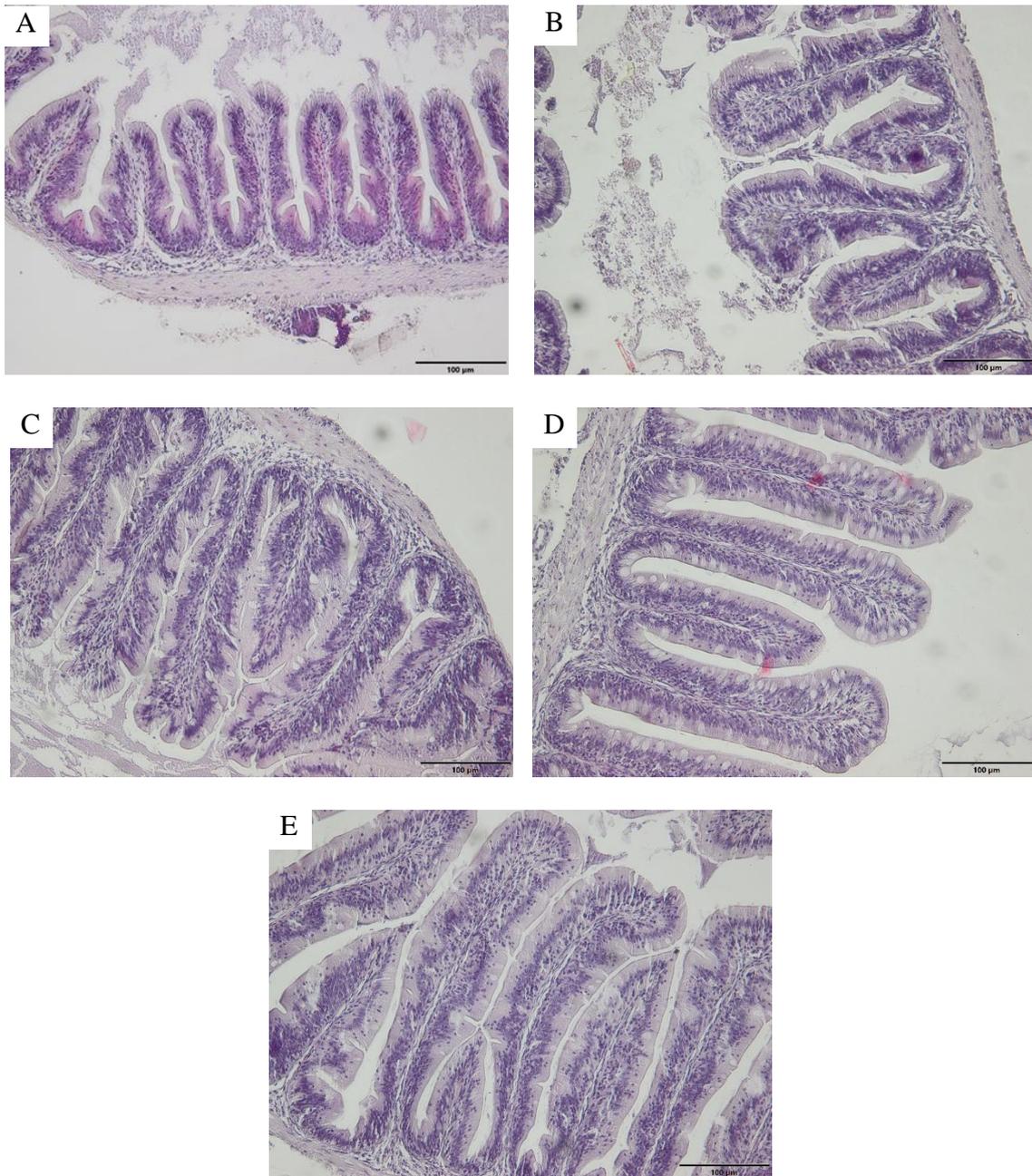


Figura 8. Comparação visual entre a altura das vilosidades intestinais de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) do grupo controle (A); do grupo alimentado com 0,75 (B); 1,5 (C); 2,25 (D); 3,0 (E) g kg⁻¹ de óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare*). Escala: 100 µm.

5 DISCUSSÃO

Embora ainda não existam muitos trabalhos relacionando os efeitos da adição do OEO às dietas dos organismos aquáticos, no presente estudo pode ser observado resultados positivos da sua utilização no desempenho de alevinos de tilápia do Nilo. A inclusão de diferentes concentrações do óleo não causou nenhum prejuízo a sobrevivência dos animais ao longo do experimento, e apenas a inclusão de 1,5 g kg⁻¹ apresentou resultados estatisticamente inferiores para o ganho de peso, taxa de conversão alimentar aparente, taxa de eficiência alimentar e taxa de eficiência proteica.

Como o consumo total não diferiu entre nenhum tratamento, a ação do OEO no desempenho produtivo pode estar relacionada com um maior aproveitamento da dieta (AHMAD et al., 2009), o que pode ser confirmando pela maior taxa de eficiência proteica observada no presente estudo. Devido ao baixo custo para aquisição do OEO, é viável a sua utilização, no nível de inclusão de 3,0 g kg⁻¹, na dieta para tilápia do Nilo.

Ahmad et al. (2009) em experimento realizado também com tilápias do Nilo (12 g) após a adição de diferentes concentrações de OEO (0,0; 0,5; 1,0 e 1,5% da dieta), no período de dez semanas, demonstraram que o grupo alimentado com 0,5% de OEO obteve os melhores resultados para os parâmetros de desempenho zootécnico avaliados (ganho de peso, taxa de crescimento específico, conversão alimentar, taxa de eficiência alimentar e taxa de eficiência proteica). Além disso, obtiveram menor mortalidade após desafio com *Pseudomonas aeruginosa* e *P. fluorescens*, justificando os melhores resultados de desempenho pelo aumento da imunidade, através da ação bacteriostática do carvacrol e timol, componentes do OEO, que agem na membrana celular bacteriana, impedindo sua divisão mitótica e por sua ação bactericida, alterando a permeabilidade de suas membranas, causando desidratação e morte celular (FUKAYAMA et al., 2005). Resultado similar ao encontrado por Rattanachaikunsopon e Phumkhachorn (2010), que após a adição de 20 ppm de carvacrol na dieta de tilápia do Nilo, o animal apresentou maior resistência ao desafio por *Edwardsiella tarda*.

Já El-Hawarry et al. (2018), em trabalho realizado com juvenis de tilápias do Nilo (peso entre 13 e 14 g), porém cultivadas em três diferentes densidades e alimentadas com uma dieta contendo duas concentrações de OEO (1,0 e 2,0 mL kg⁻¹), observaram que os animais apresentaram melhoria no ganho de peso e na conversão alimentar nos tratamentos com a densidade mais baixa e intermediária que utilizaram OEO na dieta, enquanto que no tratamento com a densidade mais alta, houve uma redução do estresse nos grupos alimentados com OEO, através da estimulação da atividade de enzimas antioxidantes, resultados semelhante aos descritos por Diler et al. (2017) e Giannenas et al. (2012) em experimentos realizados com trutas arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*), alimentadas com OEO. Porém, Kanashiro (2015), não obteve resultados significativos para desempenho e estresse, com a inclusão de 0,5 g kg⁻¹ de OEO na alimentação de lambari-do-rabo-amarelo (*Astyanax altiparanae*), cultivados em diferentes densidades de estocagem.

Os efeitos da ação do OEO como melhorador de desempenho, por meio da sua ação antibacteriana e antioxidante estão de acordo com Zheng et al. (2009). Os autores demonstraram em um experimento realizado com o bagre do canal (*Ictalurus punctatus*), que a inclusão de 0,5 g kg⁻¹ de Orego-Stim® (produto comercial contendo óleo natural de *Origanum heracleoticum*), apresentou melhores resultados para ganho de peso, aumento na atividade antioxidante e menor mortalidade após desafio com *Aeromonas hydrophila*, quando comparado aos grupos controle, o grupo alimentado apenas com carvacrol, o grupo alimentado somente com timol e o grupo alimentado com timol + carvacrol. Ainda, observaram também que os peixes alimentados com

Orego-Stim apresentaram menor índice viscerossomático e menor índice hepatossomático. A avaliação desses índices é importante pois mensuram o valor do alimento, ou seja, o nível de adaptação do trato gastrointestinal a alimentação fornecida (IGHWELA et al. 2014). No entanto, nenhuma diferença significativa foi observada para essas variáveis no presente estudo.

Ferreira et al. (2014) em um estudo realizado com o lambari-do-rabo-amarelo (*Astyanax altiparanae*), adicionaram diferentes concentrações de OEO a dieta (0,0; 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5 g kg⁻¹), e recomendaram dosagens entre 0,2 e 0,62 g kg⁻¹ de OEO para melhores resultados dos índices de conversão alimentar, ganho de biomassa, taxa de crescimento específico, taxa de eficiência proteica e peso das carcaças. A taxa de eficiência proteica do trabalho mostrou um bom aproveitamento da proteína dietética em faixas próximas de inclusão de OEO. Segundo os autores, o efeito do óleo pode estar relacionado ao aumento da atividade de enzimas digestivas, melhorando a digestibilidade e absorção de nutrientes, principalmente proteína, e com isso, favorecendo a eficiência alimentar, ocorrendo uma redução desses parâmetros de desempenho conforme o aumento na inclusão do OEO. Também em ambos os trabalhos, não foram observados efeitos significativos do OEO sobre a glicemia sanguínea.

As diferentes concentrações de OEO na dieta não influenciaram os níveis de umidade, proteína, lipídios, cinzas e carboidratos no final do período de alimentação dos alevinos de tilápia do Nilo estudados. Esse resultado corrobora com os encontrados por Ahmad et al. (2009), que não obtiveram efeitos significativos para umidade, lipídios, proteína bruta e cinzas nas carcaças em experimento realizado com tilápias do Nilo. Cararo et al. (2017), também não verificaram diferenças significativas na composição corporal de juvenis de jundiá (*Rhamdia* sp.) alimentados com dietas suplementadas com diferentes níveis de OEO (0,0; 0,5; 1,0; 1,5; 2,0).

Ainda assim, estudos mostraram a influência da adição de OEO na dieta, ou seus princípios ativos, sobre a composição química de outras espécies de peixes. Ferreira et al. (2014), relataram que houve um efeito linear negativo na matéria seca e do extrato etéreo e um efeito quadrático no conteúdo proteico das carcaças, na medida em que se aumentava a quantidade de OEO adicionado às dietas. Esses resultados foram justificados pela ativação de enzimas digestivas, melhorando a digestibilidade da proteína e aumentando a quantidade de nutrientes depositados na carcaça dos peixes; e/ou pelas enzimas metabólicas, pois como houve efeito linear positivo para os níveis de glicogênio muscular, enquanto houve redução de gordura na carcaça, indicando que os lipídios foram usados como principal fonte de energia nos peixes alimentados com os maiores níveis de OEO.

Zheng et al. (2009) também obtiveram resultados significativos para proteína bruta muscular, demonstrando que os bagres do canal alimentados com dietas contendo Orego-Stim[®] e Timol + carvacrol, obtiveram maiores deposições de proteína muscular que os demais tratamentos. Contudo, não houve diferença significativa para os níveis de umidade, gordura e cinzas do músculo. Ahmadifar et al. (2011), após a adição de 1 a 3 g kg⁻¹ de uma solução timol-carvacrol, oriunda de *Origanum vulgare* à dieta para juvenis de trutas arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*), relataram uma influência significativa positiva nos teores corporais de lipídio, proteína e cinzas.

A concentração dos compostos presentes no OEO e o seu nível de inclusão na dieta, além de fatores como a forma de administração, idade e espécie alvo podem explicar a variação nos resultados de composição e desempenho com esse tipo de aditivo (CAMPAGNOLO et al., 2013).

Um fator que poderia justificar os resultados de desempenho zootécnico no presente estudo seria a morfometria intestinal (VALLADÃO et al., 2017), sendo observado que a adição de 3 g kg⁻¹ de OEO apresentou os maiores valores entre os tratamentos testados para a variável comprimento das vilosidades. Os dados mostraram um efeito trófico sobre as vilosidades intestinais, aumentando o seu tamanho, conforme aumento da adição de OEO a dieta, comprovando a ação do mesmo quando adicionado a dieta para esta variável. Esse aumento das vilosidades geralmente está associado com uma maior saúde intestinal e uma alta eficiência de absorção, que é associado com uma maior eficiência produtiva (GIANNENAS et al., 2011).

Até o momento, não existem trabalhos comparando o uso de óleo de orégano em relação à morfometria intestinal, e poucos dados na literatura que investigam o uso de outros óleos essenciais na avaliação desse parâmetro em peixes. Em um estudo realizado com tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), alimentadas durante 60 dias com dieta contendo 250 mg kg⁻¹ de óleo essencial de *Melaleuca alternifolia*, observou-se que os animais apresentaram maior tamanho das vilosidades intestinais, sem apresentar diferença significativa para espessura das vilosidades, em relação ao tratamento controle, ao tratamento com 100 mg kg⁻¹ e aos tratamentos que utilizaram óleo essencial de *Mentha piperita* (VALLADÃO et al., 2017). Em outro trabalho realizado com jundiá (*Rhamdia quelen*), após sessenta dias alimentados com dietas contendo 2 mL/kg de óleo essencial de *Aloysia triphylla*, as análises com as amostras de intestino anterior indicaram aumento no número de dobras intestinais e no tamanho do enterócito, sem alteração significativa com relação à altura das dobras e a área total do epitélio (ZEPPEFELD et al., 2016).

Esses resultados podem ser explicados pelo efeito antibacteriano do óleo, diminuindo a quantidade de bactérias indesejáveis presentes no intestino dos peixes, reduzindo os danos nas mucosas e o gasto de energia que seria empregada na reposição celular, permitindo o seu desenvolvimento (DIAS et al., 2015; ZHENG et al., 2009). Além disso, os óleos essenciais podem atuar como prebióticos, estimulando o crescimento de bactérias comensais, como *Lactobacillus* e *Bifidobactéria* no intestino, facilitando o fornecimento contínuo de substratos específicos para a flora intestinal protetora ou minimizando o risco de desenvolvimento de populações nas quais patógenos oportunistas podem prosperar, protegendo o tecido intestinal de ataques microbiano (VIDANARACHCHI et al., 2005).

Outra hipótese para esses resultados é a ação antioxidante dos óleos essenciais, pois durante o processo digestivo há a liberação de espécies reativas de oxigênio e estas atuam na mucosa superficial do intestino encurtando as vilosidades intestinais, porém, enzimas antioxidantes, como catalase e superóxido dismutase, tem a capacidade de neutralizar esses radicais (CHOWDHURY et al., 2018). Pela natureza lipídica dos óleos essenciais, eles podem atuar como sequestradores de radicais livres, protegendo as vilosidades do dano oxidativo, e estimulando a atividade dessas enzimas antioxidantes. (WINDISCH et al., 2008).

Portanto, diversas hipóteses podem explicar a ação dos óleos essenciais no aumento do tamanho das vilosidades intestinais, como observado no presente estudo. Para tanto, estudos deverão ser realizados investigando a influência do óleo essencial de orégano sobre a atividade de enzimas digestivas e antioxidantes, além de efeitos relacionados à comunidade microbiana intestinal.

6 CONCLUSÃO

Com base nos resultados do presente estudo, é possível concluir que o óleo essencial de orégano (*Origanum Vulgare*), no nível de inclusão de 3,0 g kg⁻¹, tem potencial para ser utilizado como aditivo fitogênico na dieta para tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) cultivada em água salinizada, proporcionando maiores tamanhos de vilosidades intestinais. Além disso, é recomendável que essa pesquisa seja repetida, com um número de dias de experimento maior, para que se possa analisar possíveis efeitos sequenciais ou de longo prazo, potencializando o uso do óleo essencial de orégano como promotor de crescimento.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AHMAD, M.H.; EL-GAMAL, R.M.; HAZAA, M.M.; HASSAN, S.M.; EL ARABY, D.A. The use of *Origanum vulgare* extract in practical diets as a growth and immunity promoter for Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.) fingerlings challenged with pathogenic *Pseudomonas aeruginosa* and *Pseudomonas fluorescens*. **The Egyptian Journal of Experimental Biology (Zoology)**, 5, 457-463, 2009.
- AHMADIFAR, E.; FALAHATKAR, B.; AKRAMI, R. Effects of dietary thymolcarvacrol on growth performance, hematological parameters and tissue composition of juvenile rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. **Journal of Applied Ichthyology**. v. 1, n. 4, p.1-4, 2011.
- BANCO MUNDIAL. Fish to 2030: prospects for fisheries and aquaculture. Washington: **Banco Mundial**, Dec. 2013.
- BARLOW, G.W. The Cichlid Fishes: Nature's Grand Experiment in Evolution. **Perseus Publishing**. 335 pp, 2000.
- BARRETO, M.S.R.; MENTEN, J.F.M.; RACANICCI, A.M.C.; PEREIRA, P.W.Z.; RIZZO, P.V. Plant extracts used as growth promoters in broilers. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, 10(2), 109-115, 2008.
- BARROWS, F.T.; HARDY R.W. Feed additives. **Encyclopedia of Aquaculture**, pp. 335–340, Hoboken, NJ, 2000.
- BAYSOY, E.; ATLI, G.; CANLI, M. The effects of salinity and salinity + metal (chromium and lead) exposure on atpase activity in the gill and intestine of tilapia *Oreochromis niloticus*. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, 64, 291–300, 2013.
- BIANCHINI, A.E.; GARLET, Q.I.; DA CUNHA, J.A.; BANDEIRA JUNIOR, G.; BRUSQUE, I.C.M.; SALBEGO, J.; HEINZMANN, B.M.; BALDISSEROTTO, B. Monoterpenoids (thymol, carvacrol and S-(+)-linalool) with anesthetic activity in silver catfish (*Rhamdia quelen*): evaluation of acetylcholinesterase and GABAergic activity. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, 50(12), 2017.
- BONA, T.D.M.M.; PICKLER, L.; MIGLINO, L.B.; KURITZA, L.N.; VASCONCELOS, S.P.; SANTIN, E. Óleo essencial de orégano, alecrim, canela e extrato de pimenta no controle de Salmonella, Eimeria e Clostridium em frangos de corte. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, 32(5), 411-418, 2012.
- CAMPAGNOLO, R.; FRECCIA, A.; BERGMANN, R.R.; MEURER, F.; BOMBARDELLI, R.A. Óleos essenciais na alimentação de alevinos de tilápia do Nilo. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, 14(3), 2013.
- CARARO, L.M.; SADO, R.Y.; MUELBERT, B.; DE BORBA, M.R. Evaluation of oregano essential oil as a growth promoter and resistance stimulator against *Ichthyophthirius multifiliis* (Protozoa, Ciliophora) in silver catfish juveniles, *Rhamdia sp.* (Siluriformes, Heptapteridae). **Semina: Ciências Agrárias**, 38(6), 3871-3885, 2017.
- CARNEIRO, D.O.; FIGUEIREDO, H.C.P.; PEREIRA JUNIOR, D.J.; LEAL, C.A.G.; LOGATO, P.V.R. Perfil de susceptibilidade a antimicrobianos de bactérias isoladas em diferentes sistemas de cultivo de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*).

Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, v. 59, n. 4, p. 869-876, 2007.

CATALAN, A.A.S.; GOPINGER, E.; LOPES, D.C.N.; GONÇALVES, F.M.; ROLL, A.A.P.; XAVIER, E.G.; AVILA V.S.; ROLL, V.F.B. Aditivos fitogênicos na nutrição animal: *Panax ginseng*. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, 107(581-582), 15-21, 2012.

CHOWDHURY, S.; MANDAL, G.P.; PATRA, A.K.; KUMAR, P.; SAMANTA, I.; PRADHAN, S.; SAMANTA, A.K. Different essential oils in diets of broiler chickens: 2. Gut microbes and morphology, immune response, and some blood profile and antioxidant enzymes. **Animal Feed Science and Technology**, 236, 39-47, 2018.

CNAANI, A.; HULATA, G. Improving Salinity Tolerance in Tilapias: Past Experience and Future Prospects. **The Israeli Journal of Aquaculture**, v.63, p.1-21, 2010.

COSTA, A.C. **Atividade antibacteriana dos óleos essenciais de *Origanum vulgare L.* e *Cinnamomum zeylanicum B.* contra bactérias multirresistentes**. Tese de Doutorado. Universidade Federal da Paraíba, 98p. 2009.

DE AZEVEDO, R.V.; DOS SANTOS-COSTA, K.; DE OLIVEIRA, K.F.; FLORES-LOPES, F.; TEIXEIRA-LANNA, E.A.; TAVARES-BRAGA, L.G. Responses of Nile tilapia to different levels of water salinity. **Latin American Journal of Aquatic Research**, vol. 43, 2015.

DIAS, G.E.A.; DE CARVALHO, B.O.; GOMES, A.V.C.; MEDEIROS, P.T.C.; SOUSA, F.D.R.; DE SOUZA, M.M.S.; DE LIMA, C.A.R. Óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare L.*) na dieta de frangos de corte como equilibrador da microbiota intestinal. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v.37, n.1, p.108-114, 2015.

DILER, O.; GORMEZ, O.; DILER, I.; METIN, S. Effect of oregano (*Origanum onites L.*) essential oil on growth, lysozyme and antioxidant activity and resistance against *Lactococcus garvieae* in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). **Aquaculture nutrition**, 23(4), 844-851, 2017.

EC. Regulation (EC) No. 1831/2003 of the European Parliament and of the Council of 22 September 2003 on additives for use in animal nutrition. **Official Journal of the European Union**, L268, 29-42, 2003.

EL-HAWARRY, W.N.; MOHAMED, R.A.; IBRAHIM, S.A. Collaborating effects of rearing density and oregano oil supplementation on growth, behavioral and stress response of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **The Egyptian Journal of Aquatic Research**, 44(2), 173-178, 2018.

EL-SAYED, A.M. Tilapia Culture. **CABI Publishing**, Massachusetts, USA, 2006a.

EL-SAYED, A.M. Tilapia culture in salt water: environmental requirements, nutritional implication and economic potentials. Avances en Nutrición Acuícola VIII. **VIII Simposium internacional de Nutrición Acuícola**. 15-17 Noviembre. Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey, Nuevo León, México, 2006b.

ERTAS, O.N.; GÜLER, T.; ÇİFTÇİ, M.; DALKILIÇ, B.; SIMSEK, U.G. The effect of an essential oil mix derived from Oregano, Clove and Anise on broiler performance. **International Journal of Poultry Science**, v. 4 n. 11, p. 879-884, 2005.

EXTRATOS VEGETAIS. **Food Ingredients Brasil**. n.11, 2010.

FAO. The State of World Fisheries and Aquaculture 2018 (SOFIA): Meeting the sustainable development goals, Rome. **Food and Agriculture Organization**, 227 p., 2018.

FERKET, P.R.; SANTOS, A.A.; OVIEDO-RONDÓN, E.O. Dietary Factors that Affect Gut Health and Pathogen Colonization. **32nd Annual Carolina Poultry Nutrition Conference**. Sheraton Imperial Hotel, RTP, NC. October 27, 2005.

FERNANDES, R.T.V.; DE ARRUDA, A.M.V.; OLIVEIRA, V.R.M.; DE QUEIROZ, J.P.A.F.; MELO, A.S.; DIAS, F.K.D.; MARINHO, J.B.M.; SOUZA, R.F.; SOUZA, A.O.V.; DOS SANTOS FILHO, C.A. Aditivos fitogênicos na alimentação de frangos de corte: óleos essenciais e especiarias. **PUBVET**, 9, 502-557, 2015.

FERREIRA, P.M.; CALDAS, D.W.; SALARO, A.L.; SARTORI, S.S.; OLIVEIRA, J.M.; CARDOSO, A.J.; ZUANON, J.A. Intestinal and liver morphometry of the Yellow Tail Tetra (*Astyanax altiparanae*) fed with oregano oil. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, 88(2), 911-922, 2016.

FERREIRA, P.M.F.; NASCIMENTO, L.S.; DIAS, D.C.; MOREIRA, D.M.V.; SALARO, A.L.; DE FREITAS, M.B.D. Essential oregano oil as agrowth promoter for the yellowtail tetra, *Astyanax altiparanae*. **Journal of the World Aquaculture Society** 45:28–34, 2014.

FOTEA, L.; COSTĂCHESCU, E.; HOHA, G.; LEONTE, D. The effect of oregano essential oil (*Origanum vulgare L.*) on broiler performance. **Journal Lucrări Științifice**, v. 53, p. 253 – 256, 2009.

FRECCIA, A.; SOUSA, S.M.D.N.; MEURER, F.; BUTZGE, A.J.; MEWES, J.K.; BOMBARDELLI, R.A. Essential oils in the initial phase of broodstock diets of Nile tilapia. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 43(1), 1-7, 2014.

FUKAYAMA, E.H; BERTECHINI, A.G.; GERALDO, A.; KATO, R.K.; MURGAS, L.D.S. Extrato de orégano como aditivo em rações para frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 2316-2326, 2005.

FÜLBER, V.M.; MENDEZ, L.D.V.; BRACCINI, G.L.; BARRERO, N.M.L.; DIGMEYER, M.; RIBEIRO, R.P. Desempenho comparativo de três linhagens de tilápia do Nilo *Oreochromis niloticus* em diferentes densidades de estocagem. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, 31(2), 2009.

FURUYA, W.M. Tabelas brasileiras para nutrição das Tilápias. Toledo: **GFM**, 100p, 2010.

GABOR, E.F.; ŞARA, A.; BENŢEA, M.; CREŢA, C.; BACIU, A. The effect of phytoadditive combination and growth performances and meat quality in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Scientific Papers Animal Science and Biotechnologies**, 45(2), 43-47, 2012.

GARCIA, F.; ROMERA, D.M.; GOZI, K.S.; ONAKA, E.M.; FONSECA, F.S.; SCHALCH, S.H.C.; CANDEIRA, P.G.; GUERRA, L.O.M.; CARMO, F.J.; CARNEIRO, D.J.; MARTINS, M.I.E.G.; PORTELLA, M.C. Stocking density of Nile tilapia in cages placed in a hydroelectric reservoir. **Aquaculture**, 410, 51-56, 2013.

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

GIANNENAS, I.; TSALIE, E.; CHRONIS, E.; MAVRIDIS, S.; TONTIS, D.; KYRIAZAKIS, I. Consumption of *Agaricus bisporus* mushroom affects the performance, intestinal microflora composition and morphology, and antioxidant status of turkey poults. **Animal Feed Science and Technology**, 165, 218–229, 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, n.1-4, p.1-15, 2011.

HONG, J.C.; STEINER, T.; AUFY, A.; LIEN, T.F. Effects of supplemental essential oil on growth performance, lipid metabolites and immunity, intestinal characteristics, microbiota and carcass traits in broilers. **Livestock Science**, 144(3), 253-262, 2012.

IBGE. **Produção da Pecuária municipal**, Rio de Janeiro, v. 44, 2016.

IGHWELA, K.A.; AHMAD, A.B.; ABOL-MUNAFI, A.B. The selection of viscerosomatic and hepatosomatic indices for the measurement and analysis of *Oreochromis niloticus* condition fed with varying dietary maltose levels. **International Journal of Fauna and Biological Studies**, 1, 18–20, 2014.

JANCZYK, P.; PIEPER, R.; URUBSCHUROV, V. Research article: investigations on the effects of dietary essential oils and different husbandry conditions on the gut ecology in piglets after weaning. **International Journal of Microbiology**, 2009.

JANG, I.S.; KO, Y.H.; KANG, S.Y.; LEE, C.Y. Effect of a commercial essential oil on growth performance, digestive enzyme activity and intestinal microflora population in broiler chickens. **Animal Feed Science and Technology**, v. 134, p. 304-315, 2007.

JEFFERY, K.R.; STONE, D.; FEIST, S.W.; VERNER-JEFFREYS, W. An outbreak of disease caused by *Francisella* sp. in Nile tilapia *Oreochromis niloticus* at a recirculation fish farm in the UK. **Diseases of Aquatic Organisms**, v.91, p.161-165, 2010.

JUNIOR, B.; PAULA, A.; AZEVEDO, C.M.D.S.B.; HENRY-SILVA, G.G. Polyculture of Nile tilapia and shrimp at different stocking densities. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.41 n.7, p.1561-1569, 2012.

KALEMBA, D.; KUNICKA, A. Antibacterial and antifungal properties of essential oils. **Current Medicinal Chemistry**. v. 10, n. 10, p. 813-829, 2003.

KANASHIRO, M.Y. **Avaliação do óleo de orégano em dietas para lambarisdo-rabo-amarelo (*Astyanax altiparanae*) em diferentes densidades de estocagens.**

Dissertação (mestrado em Biologia Animal), Departamento de Biologia Animal – UFV, Viçosa, 54 p., 2015.

KÜLTZ, D. Physiological mechanisms used by fish to cope with salinity stress. **The Journal of Experimental Biology**, 218, 1907–1914, 2015.

LEMARIÉ, G.; BAROILLER, J.F.; CLOTA, F.; LAZARD, J.; DOSDAT, A. A simple test to estimate the salinity resistance of fish with specific application to *O. niloticus* and *S. melanotheron*. **Aquaculture**, v.240, n.1, p.575-587, 2004.

LEMO, C.H.P.; RIBEIRO, C.V.D.M.; DE OLIVEIRA, C.P.B.; COUTO, R.D.; COPATTI, C.E. Effects of interaction between pH and stocking density on the growth, haematological and biochemical responses of Nile tilapia juveniles. **Aquaculture**, 495: 62-67, 2018.

LI, Z.; LUI, E.Y.; WILSON, J.M.; IP, Y.K.; LIN, Q.; LAM, T.J.; LAM, S.H. Expression of key ion transporters in the gill and esophageal-gastrointestinal tract of euryhaline Mozambique tilapia *Oreochromis mossambicus* acclimated to fresh water, seawater and hypersaline water. **PLOS ONE**, vol. 9, e87591, 2014.

LIKONGWE, J.S.; STECKO, T.D.; STAUFFER JR., J.R.; CARLINE, R.F. Combined effects of water temperature and salinity on growth and feed utilization of juvenile Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (Linnaeus). **Aquaculture**, 146:37-46, 1996.

LIMA, R.K.; CARDOSO, M.G. Família Lamiaceae: Importantes Óleos Essenciais com Ação Biológica e Antioxidante. **Revista Fitos**, v. 3, n. 03, p. 14-24, 2013.

LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. Plantas medicinais no Brasil: exóticas e cultivadas. 2. ed. **Nova Odessa**, São Paulo: Instituto Plantarum, 364 p., 2008.

LUKAS, B.; SCHMIDERER, C.; NOVAK, J. Essential oil diversity of European *Origanum vulgare* L. (Lamiaceae). **Phytochemistry**, 119, 32-40, 2015.

MAINARDES-PINTO, C.S.R.; VERANI, J.R.; ANTONIUTTI, D.M.; STEMPNIEWSKI, H.L. Estudo comparativo do crescimento de machos de *Oreochromis niloticus* em diferentes períodos de cultivo. **Boletim do Instituto de Pesca**, v.16 p.19-27, 1989.

MATHÉ, A.K.O.S. Essential oils–biochemistry, production and utilisation. **Phytogenics in Animal Nutrition**. Natural Concepts to Optimize Gut Health and Performance, 1-18, 2009.

DE MELO, A.R.; STIPP, N.A.F. A Piscicultura em cativeiro como alternativa econômica para as áreas rurais. **GEOGRAFIA (Londrina)**, 10(2), 175-193, 2001.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Aprovar o regulamento técnico sobre aditivos para produtos destinados à alimentação animal. **Diário Oficial da União, Instrução normativa n.º 13**, de 1 de dezembro de 2004.

MITSCHE, P.; ZITTERL-EGLESEER, K.; KÖHLER, B.; GABLER, C.; LOSA, R.; ZIMPERNIK, I. The effect of two different blends of essential oil components on the proliferation of *Clostridium perfringens* in the intestines of broilers chickens. **Poultry Science**, v. 83, p. 669-675, 2004.

- MOHAMED, M.A.; EL-DALY, E.F.; EL-AZEEM, N.A.A.; YOUSSEF, A.W.; HASSAN, H.M.A. Growth performance and histological changes in ileum and immune related organs of broilers fed organic acids or antibiotic growth promoter. **International Journal of Poultry Science**, 13(10), 602–610, 2014.
- MIZUNO, S.; URAWA, S.; MIYAMOTO, M.; HATAKEYAMA, M.; SASAKI, Y.; KOIDE, N.; TADA, S.; UEDA, H. Effects of dietary supplementation with oregano essential oil on prevention of the ectoparasitic protozoans *Ichthyobodo salmonis* and *Trichodina truttae* in juvenile chum salmon *Oncorhynchus keta*. **Journal of fish biology**, 93(3), 528-539, 2018.
- NICHOLSON, J.K.; HOLMES, E.; KINROSS, J.; BURCELIN, R.; GIBSON, G.; JIA, W.; PETTERSSON, S. Host-gut microbiota metabolic interactions. **Science**, 336(6086), 1262–1267, 2012.
- OETTING, L.L.; UTIYAMA, C.E.; GIANI, P.A.; RUIZ, U.S.; MIYADA, V.S. Efeitos de extratos vegetais e antimicrobianos sobre a digestibilidade aparente, o desempenho, a morfometria dos órgãos e a histologia intestinal de leitões recém-desmamados. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, n. 4, p. 1389-1397, 2006.
- OLIVEIRA, E.G.; SANTOS, F.D.S. Piscicultura e os desafios de produzir em regiões com escassez de água. Embrapa Meio-Norte-Artigo em anais de congresso. **Ciência Animal**, v. 25, n. 1, p. 133-154, 2015.
- OUWEHAND, A.C.; TIIHONEN, K.; KETTUNEN, H.; PEURANEN, S.; SCHULZE, H.; RAUTONEN, N. In vitro effects of essential oils on potential pathogens and beneficial members of the normal microbiota. **Veterinari Medicina**, 55(2), 71-78, 2010.
- PEIXE BR - Associação Brasileira da Piscicultura. **Anuário Peixe BR da Piscicultura 2019**, 148 p., 2019.
- PENG, M.; XU, W.; AI, Q.; MAI, K.; LIUFU, Z.; ZHANG, K. Effects of nucleotide supplementation on growth, immune responses and intestinal morphology in juvenile turbot fed diets with graded levels of soybean meal (*Scophthalmus maximus* L.). **Aquaculture**, 392, 51-58, 2013.
- PEREIRA, D.S.P.; GUERRA-SANTOS, B.; LUIZ, E.; MOREIRA, T.; ALBINATI, R.C.B.; CARIBÉ, M.C. Parâmetros hematológicos e histológicos de Tilápia do Nilo em resposta ao desafio de diferentes níveis de salinidade. **Boletim Instituto de Pesca, São Paulo**, 42(3), 635-647, 2016.
- PERIĆ, L.; ŽIKIĆ, D.; LUKIĆ, M. Application of alternative growth promoters in broiler production. **Biotechnology in Animal Husbandry**, 25, 387-397, 2009.
- PILLAY, T.V.R.; KUTTY, M.N. Aquaculture: principles and practices. (2nd edition). Oxford: **Blackwell Publishing Ltd**, 575 pp, 2005.
- POURMOGHIM, H.; HAGHIGHI, M.; ROHANI, M.S. Effect of dietary inclusion of *Origanum vulgare* extract on non-specific immune responses and hematological parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Bulletin of Environment, Pharmacology and Life Sciences**, 4, 33-39, 2015.
- RATTANACHAIKUNSOPON, P.; PHUMKHACHORN, P. Assessment of synergistic efficacy of carvacrol and cymene against *Edwardsiella tarda* in vitro and

in Tilapia (*Oreochromis niloticus*). **African Journal of Microbiology Research**, v. 4, n.5, p. 420-425, 2010.

OLIVEIRA, M.N.; SIVIERI, K.; ALEGRO, J.H.A.; SAAD, S.M.I. Aspectos tecnológicos de alimentos funcionais contendo probióticos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, 38(1), 1-21, 2002.

ROOFCHAEI, A.; IRANI, M.; EBRAHIMZADEH, M.A.; AKBARI, M.R. Effect of dietary oregano (*Origanum vulgare L.*) essential oil on growth performance, cecal microflora and serum antioxidant activity of broiler chickens. **African Journal of Biotechnology**, v. 10, n. 32, p. 6177-6183, 2011.

ROSSI, C.A.R.; SOARES, M. Índices produtivos de fêmeas suínas alimentadas com dietas de gestação e lactação suplementadas com óleos essenciais de orégano e alecrim: avaliação de leitegadas. **Ciência Rural**, 43(11), 2013.

SÁNCHEZ-MUROS, M.J.; SÁNCHEZ, B.; BARROSO, F.G.; GARCÍA-MESA, S.; RUFINO-PALOMARES, E.E.; LUPIÁÑEZ, J.A.; SANZ, A. Effects of culture densities on feed demand, behavioural tests and on the hepatic and cerebral oxidative status in tilapia (*Oreochromis sp.*). **Applied Animal Behaviour Science**, 185, 137-145, 2016.

SANTOS, E.L.; LUDKE, M.C.M.M.; LIMA, M.R. Extratos vegetais como aditivos em rações para peixes. **Revista Eletrônica Nutritime**, 6(1), 789-200, 2009.

SANTOS, L.; RAMOS, F. Antimicrobial resistance in aquaculture: current knowledge and alternatives to tackle the problem. **International Journal Of Antimicrobial Agents**, 2018.

SANTURIO, J.M.; SANTURIO, D.F.; POZZATTI, P.; MORAES, C.; FRANCHIN, P.R.; ALVES, S.H. Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de orégano, tomilho e canela frente a sorovares de *Salmonella enterica* de origem avícola. **Ciência Rural**, 37(3), 803-808, 2007.

SARY, C.; FRANCISCO, J.G.P.; DALLABONA, B.R.; DE MACEDO, R.E.F.; GANECO, L.N.; KIRSCHNIK, P.G. Influência da lavagem da carne mecanicamente separada de tilápia sobre a composição e aceitação de seus produtos. **Revista Acadêmica: Ciência Animal**, 7(4), 423-432, 2009.

SAS Institute. **SAS/STAT 9.2**. User's guide. SAS Institute Inc, Cary, NC. 2008.

SCORVO FILHO, J.D.S.; FRASCÁ-SCORVO, C.M.D.; ALVES, J.M.C.; SOUZA, F. A tilapicultura e seus insumos, relações econômicas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 39 (Especial), 2010.

SHOEMAKER C.A.; KLESZIUS P.H.; EVANS J.J. Diseases of tilapia with emphasis on economically important pathogens. In: **Proceedings of the 5th International Symposium on Tilapia Aquaculture**. Rio de Janeiro: ISTA, 2:565-572, 2000.

SILVA, M.A.D.; PESSOTTI, B.M.D.S.; ZANINI, S.F.; COLNAGO, G.L.; RODRIGUES, M.R.A.; NUNES, L.D.C.; ZANINI, M.S.; MARTINS, I.V.F. Intestinal mucosa structure of broiler chickens infected experimentally with *Eimeria tenella* and treated with essential oil of oregano. **Revista Ciência Rural**, v. 39, n. 5, p. 1471-1477, 2009.

SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. **Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos**. 2^o edição. Viçosa, MG: UFV, 178 p., 2002.

SOUZA, L.F.A.; ARAÚJO, D.N.; ASTOLPHI, J.L.L.; DIAS, L.B.M.; AMBIEL, A.C.; SANTOS, L.S.; CARMO, A.J.; SILVA, P.C.G. Probiótico e antibiótico como promotores de crescimento para frangos de corte. **Colloquium Agrariae**, Vol. 6, No. 2, pp. 33-39, 2010.

SUNDELL, H.; SUNDELL, K.S. Environmental impacts on fish mucosa. **Academic Press**, 171-197 pp, 2015.

SURESH, A.V.; LIN, C.K. Tilapia culture in saline waters: a review. **Aquaculture**, v.106, n.3-4, p.201-226, 1992.

SUTILI, F.J.; GATLIN III, D.M.; HEINZMANN, B.M.; BALDISSEROTTO, B. Plant essential oils as fish diet additives: benefits on fish health and stability in feed. **Reviews in Aquaculture**, 10(3), 716-726, 2017.

TEIXEIRA, B.; MARQUES, A.; RAMOS, C.; NENG, N.R.; NOGUEIRA, J.M.; SARAIVA, J.A.; NUNES, M.L. Chemical composition and antibacterial and antioxidant properties of commercial essential oils. **Industrial Crops and Products**, 43, 587-595, 2013.

TOGHYANI, M.; MOUSAVI, S.; MODARESI, M. Effect of water extract of marjoram (*Origanum Majorana L.*) as an alternative to antibiotic growth promoter on immunity and serum lipid profile of broiler chicks. 2nd International Conference on Chemical, **Biological and Environmental Engineering**, 2010.

TRAN-NGOC, K.T.; SCHRAMA, J.W.; LE, M.T.; NGUYEN, T.H.; ROEM, A.J.; VERRETH, J.A. Salinity and diet composition affect digestibility and intestinal morphology in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Aquaculture**, 469, 36-43, 2017.

TSINAS, A.; GIANNENAS, I.; VOIDAROU, C.; TZORA, A.; SKOUFOS, J. Effects of an oregano based dietary supplement on performance of broiler chickens experimentally infected with *Eimeria acervulina* and *Eimeria maxima*. **Japan Poultry Science**, v. 48, p. 194-200, 2011.

VALLADÃO, G.M.R.; GALLANI, S.U.; PALA, G.; JESUS, R.B.; KOTZENT, S.; COSTA, J.C.; SILVA, T.F.A.; PILARSKI, F. Practical diets with essential oils of plants activate the complement system and alter the intestinal morphology of Nile tilapia. **Aquaculture Research**, 48(11), 5640-5649, 2017.

VIDANARACHCHI, J.K.; MIKKELSEN, L.L.; SIMS, I.; IJI, P.A.; CHOCT, M. Phytobiotics: alternatives to antibiotic growth promoters in monogastric animal feeds. **Recent Advances in Animal Nutrition in Australia**, vol. 15, 131-144, 2005.

VOLPATTI, D.; CHIARA, B.; FRANCESCA T.; MARCO, G. Growth parameters, innate immune response and resistance to *Listonella* (*Vibrio*) *anguillarum* of *Dicentrarchus labrax* fed carvacrol supplemented diets. **Aquaculture Research** 45:31-44, 2013.

WINDISCH, W.; SCHEDULE, K.; PLITZNER, C.; KROISMAYR, A. Use of phytogetic products as feed additives for swine and poultry. **Journal of Animal Science**, 86, E140-E148, 2008.

YILMAZ, E.; ERGUN, S.; YILMAZ, S. Influence of carvacrol on the growth performance, hematological, non-specific immune and serum biochemistry parameters in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Food and Nutrition Sciences** 6: 523–531, 2015.

ZAVARIZE, K.C.; MENTEN, J.F.M.; TRALDI, A.B.; SANTAROSA, J.; DA SILVA, C.L.S. Utilização de glutamina na nutrição de monogástricos. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, 105, 573-576, 2010.

ZENG, Z.; ZHANG, S.; WANG, H.; PIAO, X. Essential oil and aromatic plants as feed additives in non-ruminant nutrition: a review. **Journal of Animal Science and Biotechnology** 6:7, 2015.

ZEPPENFELD, C.C.; HERNÁNDEZ, D.R.; SANTINÓN, J.J.; HEINZMANN, B.M.; CUNHA, M.A.; SCHMIDT, D.; BALDISSEROTTO, B. Essential oil of *Aloysia triphylla* as feed additive promotes growth of silver catfish (*Rhamdia quelen*). **Aquaculture Nutrition**, 22(4), 933-940, 2016.

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