

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

Juan Lameira Dornelles

**AÇÃO ANTIOXIDANTE DA DIETA CONTENDO LINALOL EM JUVENIS DE
JUNDIÁ (*Rhamdia quelen*) EXPOSTOS A HIPÓXIA E REOXIGENAÇÃO**

Santa Maria, RS

2021

Juan Lameira Dornelles

AÇÃO ANTIOXIDANTE DA DIETA CONTENDO LINALOL EM JUVENIS DE JUNDIÁ (*Rhamdia quelen*) EXPOSTOS A HIPÓXIA E REOXIGENAÇÃO

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Zootecnia, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS) como requisito parcial para a obtenção do título de **Mestre em Zootecnia: Produção Animal**

Orientador Prof.º Dr. Mauro Alves da Cunha

Santa Maria, RS
2021

Dornelles, Juan Lameira
AÇÃO ANTIOXIDANTE DA DIETA CONTENDO LINALOL EM
JUVENIS DE JUNDIÁ (*Rhamdia quelen*) EXPOSTOS A HIPÓXIA E
REOXIGENAÇÃO / Juan Lameira Dornelles.- 2021.
56 p.; 30 cm

Orientadora: Mauro Alves da Cunha
Coorientadora: Carla Cristina Zeppenfeld
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa
Maria, Centro de Ciências Rurais, Programa de Pós
Graduação em Zootecnia, RS, 2021

1. Aditivo alimentar 2. Linalol 3. Estresse oxidativo
4. Hipóxia 5. Piscicultura I. Alves da Cunha, Mauro II.
Zeppenfeld, Carla Cristina III. Título.

Sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFSM. Dados fornecidos pelo autor(a). Sob supervisão da Direção da Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central. Bibliotecária responsável Paula Schoenfeldt Patta CRB 10/1728.

Declaro, JUAN LAMEIRA DORNELLES, para os devidos fins e sob as penas da lei, que a pesquisa constante neste trabalho de conclusão de curso (Dissertação) foi por mim elaborada e que as informações necessárias objeto de consulta em literatura e outras fontes estão devidamente referenciadas. Declaro, ainda, que este trabalho ou parte dele não foi apresentado anteriormente para obtenção de qualquer outro grau acadêmico, estando ciente de que a inveracidade da presente declaração poderá resultar na anulação da titulação pela Universidade, entre outras consequências legais.

Juan Lameira Dornelles

AÇÃO ANTIOXIDANTE DA DIETA CONTENDO LINALOL EM JUVENIS DE JUNDIÁ (*Rhamdia quelen*) EXPOSTOS A HIPÓXIA E REOXIGENAÇÃO

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Zootecnia, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS) como requisito parcial para a obtenção do título de **Mestre em Zootecnia: Produção Animal**

Aprovado em 19 de Outubro de 2021:



Mauro Alves da Cunha, Dr. (UFSM)
(Presidente/orientador)



Carla Cristina Zeppenfeld, Dr^a. (UFSM)
(Co-orientadora)



Luciano de Oliveira Garcia, Dr. (FURG)



Matheus Dellaméa Baldissera Dr. (UFSM)

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho à todas pessoas que estiveram ao meu lado, sempre com palavras de apoio e incentivo para eu buscar o meu melhor.

Em especial, a meus familiares e esposa, que mesmo nos momentos mais difíceis desse período, nunca me deixaram desistir.

Orgulho e gratidão definem o meu muito obrigado a vocês!

AGRADECIMENTOS

Este período de mestrado me proporcionou muito conhecimento e amadurecimento profissional e pessoal, mas principalmente amizades que levarei para a vida.

Devido a isso agradeço:

À Deus por me dar forças e motivação para nunca desistir dos meus objetivos e querer buscar sempre mais.

Aos meus pais, Ivonir e Laura, por todo carinho e amor dedicados a mim e minha irmã. Por todos os momentos difíceis que vocês estiveram conosco dando conforto e coragem para seguir em frente. Por todo sacrifício e abdições realizadas por vocês para que fossemos “alguém na vida”. Tenho muito orgulho de vocês, sempre serão meu eterno exemplo de vida... Eu amo vocês!

À minha irmã e meu cunhado, Jéssica e Eric, obrigado pelo ombro amigo ao escutar desabafos e palavras de incentivo. Especialmente, obrigado pela oportunidade de ser padrinho da Cecília, pedacinho de amor que entrou nas nossas vidas para trazer ainda mais união a todos nos. Esse período de irmãos, compadres e vizinhos foi ótimo!

Aos meus irmãos, Elvis, Rogério (e as minhas cunhadas e sobrinhas), que sempre estiveram ao meu lado, com palavras de apoio, sempre torcendo pelo meu êxito!

A minha esposa Eduarda Zorzi, pois sem ti eu não chegaria aonde cheguei! Sei o tamanho de todo incentivo, dedicação e paciência que sempre me proporcionou. Sabes que esta conquista é tua. Obrigado por ter caminhado comigo até aqui! Vou ser eternamente grato a ti por todo esforço e carinho depositado na nossa vida! Só nós sabemos o tamanho das dificuldades que tivemos nesse período de pandemia e casa nova. Quem disse que seria fácil? Mas quando Deus coloca as pessoas certas ao nosso lado, temos certeza que no final sempre irá valer a pena! Não posso esquecer da Chanel, nossa companheira de quatro patas e muitos pêlos, que nos recebe todos os dias com brinquedos, lambidas e acoos na porta de casa, para deixar nosso fim de dia mais leve. Amo vcs!

Aos meus sogros Eliana e Jose, pelo apoio, pelo convívio e pelos desabafos.

Ao professor Dr. Mauro Alves da Cunha, por aceitar a tarefa de me orientar, pelas manhãs de ensinamentos e conversas, pela ótima convivência e ambiente de trabalho, sempre com auto astral e alegria, tu és minha inspiração como professor!

À minha co-orientadora Dra. Carla Cristina Zeppenfeld, que assim como o prof Mauro, sempre esteve pronta pra me ajudar, ate mesmo nos fins de semana pelo whatsapp e quando a distância dos congressos não me permitiu estar presente nos manejos do experimento. Por todos os auxílios e dúvidas sanadas, todo o carinho, alegria e amizade construída.

Ao Hugo Napoleão, grande amigo que o mestrado me proporcionou, que a distância entre o RS e Pará não impessa de mantermos essa amizade. Muito obrigado por me auxiliar com tantas dúvidas, análises bioquímicas e estatísticas.

Ao Matheus Dellaméa, colega da pós-graduação, sempre disposto a me ajudar e sanar minhas duvidas. Assim como todos os colegas da pós e estagiários que passaram pelo LAFIPE, pelo ótimo convívio diário e ambiente de trabalho, pelos auxílios durante os experimentos e manejos do laboratório, em especial agradecimento a Flávia, Gabriela, Elisia, Micáila, Sharine, Guerino e Carine.

Às professoras Leila Picolli e Naglezi Menezes, por toda amizade e conhecimento proporcionado desde a graduação e pós-graduação. Obrigado pelo carinho e confiança depositados a mim para a utilização do ambiente e equipamentos do Laboratório de Piscicultura da UFSM.

Aos colegas e amigos do Laboratório de piscicultura, em especial ao Everton, Silvino, Matiele, Eduarda, Gregorio e Ana Maria, sempre proporcionando um ótimo ambiente de trabalho.

À Universidade Federal de Santa Maria, que a tantos anos me proporciona tanto conhecimento, experiências e oportunidades de ser um profissional qualificado no mercado de trabalho. Tenho muito orgulho desta instituição tão respeitada no Brasil.

Ao PPGZ, em especial à professora Leila e o funcinário Marcos, sempre dispostos a me auxiliar ao máximo. Parabens pelo excelente serviço prestado.

Ao CNPq pelo auxílio financeiro que proporcionou eu cursar o mestrado.

À todas pessoas que passaram pelo meu caminho para que eu chegasse até aqui, sempre com palavras de apoio e incentivo, Obrigado! Levarei vocês sempre comigo!

EPÍGRAFE

“Mude.

Mude muito.

Mude todo o dia.

Mude quantas vezes for preciso.

Mude de opinião.

Mude de mentalidade.

Mude de lugares que você frequenta.

Mude a forma como você lida com as coisas.

Mude sempre que sentir que suas atitudes passadas não ressoam mais com quem você é agora.

Aprenda a fluir com a vida.

E se lhe perguntarem como você mudou tão rápido,

Apenas explique que você é uma constante evolução.”

Autor desconhecido

“Sigo com as minhas expectativas, agora um pouco mais maduras. Sem perder as asas, sem temer o voo, dando um passo de cada vez.”

Diego vinicius

RESUMO

AÇÃO ANTIOXIDANTE DA DIETA CONTENDO LINALOL EM JUVENIS DE JUNDIÁ (*Rhamdia quelen*) EXPOSTOS A HIPÓXIA E REOXIGENAÇÃO

AUTOR: Juan Lameira Dornelles

ORIENTADOR: Mauro Alves da Cunha

A piscicultura está em crescente desenvolvimento na produção aquícola brasileira, estimulando a produção de peixes. Em contrapartida, o aumento da densidade de estocagem pode trazer prejuízos ao setor, devido a maior exposição dos peixes ao estresse por hipóxia, ocasionando a redução de imunidade e maior susceptibilidade a enfermidades. Aos pesquisadores, surge a necessidade de estabelecer tecnologias nutricionais seguras e profiláticas, capazes de alicerçar o crescimento da cadeia aquícola. Algumas alternativas nutricionais, como a inclusão de linalol a ração, têm mostrado grande sucesso zootécnico aos peixes, potencializando o seu crescimento e condições de saúde, sem restrições à toxidade da carne para com os consumidores. O objetivo deste estudo foi avaliar as alterações fisiológicas dos diferentes níveis de suplementação de linalol na dieta de juvenis de *Rhamdia quelen* (Jundiás) expostos à hipóxia e reoxigenação, perante parâmetros metabólicos e bioquímicos. Para isso 72 peixes foram dispostos em tanques de 50 L por 30 dias de experimento, em sistema de recirculação de água e aeração constante. Os juvenis foram divididos em três grupos de avaliação e submetidos a três dietas contendo diferentes níveis de linalol (0-controle, 0,25 mL e 1,0 mL de linalol/kg de ração). A alimentação ocorreu até o dia anterior da exposição por hipóxia. Ao atingir 25 dias de experimento, uma repetição de cada tratamento, totalizando 24 unidades experimentais, foi sedada e eutanasiada (normóxia). Do 25º ao 26º dia, foi reduzido o oxigênio dissolvido na água dos animais restantes, até atingir a hipóxia. No 27º dia houve eutanásia de outros 24 peixes em todos os tratamentos para coleta de tecidos (animais submetidos à hipóxia). Posteriormente a isso, iniciou-se a reoxigenação dos tanques por 48 horas com os 24 animais restantes no experimento. No 30º dia de experimento, a última repetição de juvenis foi eutanasiada sendo coletados os tecidos necessários para análises metabólicas e bioquímicas. Os resultados demonstraram uma redução do lactato, proteínas totais, TBARS e SOD dos animais submetidos às dietas contendo linalol, em situação de hipóxia e reoxigenação, quando comparados ao grupo controle sem a adição deste componente na ração. Desta forma concluímos que a utilização do linalol à dieta de juvenis de *R. quelen*, nas concentrações testadas, tem função antioxidante redutora de estresse oxidativo, com melhores resultados nas concentrações de 1,0 mL de linalol/Kg de ração.

Palavras-chave: Linalol. Estresse. Hipóxia. Metabolismo.

ABSTRACT

ANTIOXIDANT ACTION OF THE DIET CONTAINING LINALOL IN JUVENILES OF JUNDIÁ (*Rhamdia quelen*) EXPOSED TO HYPOXY AND REOXYGENATION

AUTHOR: Juan Lameira Dornelles

ADVISOR: Mauro Alves da Cunha

Fish farming is increasingly developing in Brazilian aquaculture production, stimulating fish production. On the other hand, the increase in stocking density can bring losses to the sector, due to greater exposure of fish to diseases and stress caused by hypoxia, causing reduced immunity and greater susceptibility to diseases. For researchers, there is a need to establish safe and prophylactic nutritional technologies, capable of supporting the growth of the aquaculture chain. Some nutritional alternatives, such as the inclusion of linalool in the feed, have shown great zootechnical success for fish, enhancing their growth and health conditions, without restrictions on the toxicity of the meat towards consumers. The aim of this study was to evaluate the physiological changes of different levels of linalool supplementation in the diet of juveniles of *Rhamdia quelen* (jundiás) exposed to hypoxia and reoxygenation, against metabolic and biochemical parameters. For this, the fish were placed in 50 L tanks for 30 days of the experiment, in a water recirculation system and constant aeration. Juveniles were divided into three evaluation groups and submitted to three diets containing different levels of linalool (0-control, 0,25 mL and 1,0 mL of Linalool/kg of feed). Feeding took place throughout the experimental period. Upon reaching 25 days of experiment, a repetition of each treatment was sedated and euthanized. From the 25th to the 26th day, the oxygen dissolved in the water of the remaining animals was reduced, until hypoxia was reached. On the 27th day there was a new euthanasia for tissue collection. Afterwards, the reoxygenation of the tanks was started for 48 hours. On the 30th day of the experiment, the last repetition of juveniles was performed, and the tissues needed for metabolic and biochemical analysis were collected. The results showed a reduction in lactate, total proteins, TBARS, and SOD in animals submitted to diets containing linalool, in a hypoxia and reoxygenation situations, when compared to the control group without the addition of this component to the ration. Thus, we conclude that the use of linalool in the diet of *R. quelen* juveniles, at the concentrations tested, has an antioxidant function that reduces oxidative stress, with better results at concentrations of 1.0 mL of linalool/kg of feed.

Keywords: Linalool. Stress. Hypoxia. Metabolism.

LISTA DE FIGURAS

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Figura 1 - Exemplar de *Lippia alba*.

Figura 2 - Exemplar de jundiá, *R. quelen*.

Figura 3 - Resposta imunológica ao estresse

MANUSCRITO

Figura 1 - Parâmetros metabólicos (glicose, proteína, lactato e triglicerídeos) no tecido branquial de juvenis de *R. quelen* submetidos a hipóxia e reoxigenação, alimentados com linalol durante 30 dias.

Figura 2 - Parâmetros metabólicos (glicose, proteína, lactato e triglicerídeos) no tecido muscular de juvenis de *R. quelen* submetidos a hipóxia e reoxigenação, alimentados com linalol durante 30 dias.

Figura 3 - Parâmetros bioquímicos (TBARS, SOD e GSH) no tecido branquial de juvenis de *R. quelen* submetidos a hipóxia e reoxigenação, alimentados com linalol durante 30 dias.

Figura 4 - Parâmetros bioquímicos (TBARS, SOD e GSH) no tecido cerebral de juvenis de *R. quelen* submetidos a hipóxia e reoxigenação, alimentados com linalol durante 30 dias.

Figura 5 - Parâmetros bioquímicos (TBARS, SOD e GSH) no tecido hepático de juvenis de *R. quelen* submetidos a hipóxia e reoxigenação, alimentados com linalol durante 30 dias.

Figura 6 - Parâmetros bioquímicos (TBARS, SOD e GSH) no tecido renal de juvenis de *R. quelen* submetidos a hipóxia e reoxigenação, alimentados com linalol durante 30 dias.

LISTA DE TABELAS

MANUSCRITO

Tabela 1 - Composição nutricional da dieta.

Tabela 2 - Análise bromatológica da dieta.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACTH – Corticotrofina

CAT – Catalase

CNA – Confederação da Agricultura e Pecuária do Brasil

CRF – Hormônio adrenocorticotrófico

EROS – Espécies reativas a oxigênio

FAO – Food and Agriculture Organization of the United Nations

HPX – Hipóxia

GABAA – Ácido Gama-Aminobutírico

GPX – Glutathione peroxidase

GSH – Glutathione reduzida

GST – Glutathione-S-transferase

MDA – Malondialdeído

NMX – Normóxia

OD – Oxigênio dissolvido

OEs – Óleos essenciais

OELA – Óleo essencial de *Lippia alba*

ONU – Organização das Nações Unidas

pH – Potencial hidrogeniônico

PIB – Produto interno bruto

RAS – Sistema de recirculação de água

ROX – Reoxigenação

SOD – Superóxido dismutase

TAG – Triglicerídeos

TBA – Ácido 2-tiobarbitúrico

TBARS – Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico

TCA – Ácido tricloroacético

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	15
2	OBJETIVOS.....	17
2.1	OBJETIVO GERAL	17
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	17
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	18
3.1	ADITIVOS NATURAIS NA PISCICULTURA.....	18
3.1.1	O linalol.....	20
3.2	JUNDIÁ COMO MODELO EXPERIMENTAL.....	20
3.3	HIPÓXIA E ESTRESSE EM PEIXES.....	22
3.4	MARCADORES DE ESTRESSE EM PEIXES.....	23
3.4.1	Parâmetros metabólicos.....	23
3.4.2	Marcadores de estresse oxidativo.....	24
	REFERÊNCIAS	27
4	MANUSCRITO.....	30
5	CONCLUSÕES FINAIS.....	56

1 INTRODUÇÃO

Demandas por alimentos de qualidade, em especial a proteína animal, exigem uma grande reforma nos sistemas produtivos, além de investimentos na intensividade e segurança alimentar. Na piscicultura comercial, mundialmente, são produzidos 84 milhões de toneladas de peixe de cultivo, com consumo médio de 20kg de pescado por habitante (PEIXE-BR, 2019). Segundo o Anuário da Pesca de 2018, a produção mundial de tilápia (*Oreochromis niloticus*) girou em torno de 6 milhões de toneladas. A aquicultura produz 50% de todo o pescado consumido no mundo, contribuindo para a geração de emprego e fonte de renda da população. Hoje, o peixe é considerado a fonte de proteína animal e nutrientes essenciais mais acessível para grande parte de população mundial (FAO, 2020).

Sabe-se da extensão territorial e do potencial produtivo brasileiro, principalmente tratando-se do setor primário da economia. O agronegócio tem sido reconhecido como um setor crucial do crescimento e sustentação da economia brasileira. Em 2018, a produção de peixes de cultivo brasileiros foi de 722.560 toneladas, sendo 55,4% apenas de tilápia (400.280 toneladas). Referentes a esta produção, a região sul liderou o ranking, com 198.600 toneladas, aproximadamente 27% da produção nacional (PEIXE-BR, 2019).

A fim de difundir a aquicultura e saciar as demandas por alimentos, surge a necessidade de tecnologias que proporcionam a verticalização e o cultivo intensivo na piscicultura (TAKAHASHI, 2011). Em sistemas de produção intensiva, com as altas densidades de estocagem e a baixa concentração de oxigênio dissolvido na água, percebe-se à elevação dos riscos de ocorrência de enfermidades ocasionadas pelo estresse imposto aos animais. Inadequações estas, que, acabam por comprometer as defesas imunológicas dos animais, facilitando a ação de patógenos e, por muitas vezes, elevando a mortalidade dos peixes. (MARTINS, 2004a; MARTINS, 2004b).

No Brasil os prejuízos diretos ou indiretos, provocado por enfermidades na aquicultura, estão na faixa dos R\$ 300 milhões/ano, desconsiderando ainda os passivos econômicos ligados aos fármacos utilizados para profilaxia e tratamento (TAVARES, 2017).

Peixes em situações estressoras com baixos níveis de oxigênio dissolvido na água, tendem a buscar por uma adaptação fisiológica, que resultam em mobilização energética para fins de sobrevivência ao invés de crescimento. Em estresse por hipóxia, respostas imunológicas no eixo hipotálamo - adrenal são percebidas nos peixes, desencadeando a elevação da frequência respiratória, redução o fluxo sanguíneo no trato gastrointestinal e liberam catecolaminas no organismo (BALDISSEROTO, 2018). Essas situações, quando intensas ou constantes, ocasionam a produção de espécies reativas a oxigênio e por consequência o estresse oxidativo.

A partir deste panorama, torna-se essencial a investigação de produtos e metodologias com potenciais bioativos que auxiliem no bom desenvolvimento dos peixes, reduzindo estresse, elevando os índices de bem-estar, reduzindo o risco de enfermidades, melhorando os parâmetros de crescimento e conversão alimentar, consequentemente, proporcionando maior produtividade à piscicultura. Pesquisas recentes demonstram que os óleos essenciais podem atuar neste gargalo, maximizando os resultados da piscicultura, em especial o óleo essencial de *Lippia alba* (OELA) e seu composto majoritário, o linalol, no qual possuem alguns estudos indicando seus efeitos anestésicos antibióticos e antioxidantes (CUNHA et. al., 2011; SACCOL et al., 2013; OLIVEIRA et. al., 2018).

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

- Avaliar o efeito protetor da adição do linalol na ração de juvenis de jundiás expostos à hipóxia e reoxigenação, e sua implicação sobre os parâmetros fisiológicos desses animais.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar as alterações metabólicas e bioquímicas a partir dos diferentes níveis de suplementação (0, 0,25 e 1,0 mL/kg de ração) de linalol, perante parâmetros metabólico e bioquímicos;

- Estimar a resposta imunológica, bioquímica e metabólica com estresse induzido por hipóxia e reoxigenação nos peixes;

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 ADITIVOS NATURAIS NA PISCICULTURA

Óleos essenciais (OEs) são substâncias naturais, aromáticas e voláteis, formadas por compostos do metabolismo das plantas, oriundas por células presentes em folhas e caules. Alguns óleos essenciais têm se mostrado promissores como possíveis intervenções em redução de estresse oxidativo, anestésicos, promotores de crescimento e melhora nas respostas metabólicas dos peixes. Os OEs de espécies botânicas comestíveis vem sendo utilizados como fontes de medicamentos e conservantes alimentares a milênios (BURT, 2004)

Ao se analisar os efeitos prejudiciais do uso de produtos sintéticos na nutrição e saúde de peixes, como antibióticos e promotores de crescimento, percebe-se a incidência de resistência bacteriana, assim como toxicidade e acúmulo de resíduos químicos no tecido muscular de peixes (SHAKYA et al, 2015; AWAD; AWAAD, 2017), o que favorece o crescente interesse no uso de produtos naturais para prevenção, tratamento de enfermidades na aquicultura e garantia de maior segurança alimentar ao consumidor.

Plantas com óleos contendo atividades terapêuticas estão despertando muito interesse na piscicultura mundial, devido à segurança com relação a produtos sintéticos convencionalmente utilizados. Por isso, as principais vantagens da utilização de compostos naturais estão diretamente relacionadas à menor toxicidade e impacto ambiental, reduzindo contaminações nos corpos d'água e resíduos químicos na carne dos animais, aliados ao menor custo financeiro para o produtor (COIMBRA et al., 2006).

Segundo Bricknell; Dalmo (2005), a utilização de OE de modo profilático, é importante nos períodos críticos do ciclo produtivo, como na larvicultura, ou manejos de transporte e vacinação, causando estresse e maior susceptibilidade a agentes infecciosos. A utilização de aditivos naturais em peixes é comumente fornecida através da inoculação na ração, podendo ser realizado também via imersão no ambiente ou até mesmo através de aplicações de injeções intramusculares. Embora mais trabalhosa, a última opção apresenta melhor e mais rápida absorção dos compostos no animal.

Os OEs podem conter dezenas de componentes em diferentes concentrações (BAKKALI et al., 2008), embora constituam apenas uma pequena proporção do peso

úmido do material vegetal, geralmente cerca de 1% ou menos (CARSON & HAMMER, 2011).

Pesquisas científicas na piscicultura indicam a utilização do OE de *Lippia alba*, uma planta da família *Verbanaceae*, popularmente conhecida como erva cidreira-arbustiva, nativa da América Latina, aromática e com dimensões de até 1,5 metros de altura. Quando adicionado na ração de jundiás, o OELA possui ação anestésica (CUNHA *et al.*, 2010), antioxidante e antibiótico (SACCOL *et al.*, 2013), com resultados satisfatórios contra *Aeromonas hydrophila*, uma bactéria que causa perdas no cultivo de jundiá (SUTILI *et al.*, 2015). Estes trabalhos demonstram as vantagens da utilização de *L. alba* na piscicultura, com redução da mortalidade e menor risco de infecção, reduzindo o estresse, e por consequência, melhorando a produtividade do setor.

Figura 1 – Exemplar de *L. alba*.



Fonte: Plantamundo – Manuais de Cultivo, 2019.

3.1.1 O linalol

Os óleos essenciais são caracterizados pela composição basal de dois ou três componentes principais em concentrações relativamente altas (20-70%) em comparação com outros componentes presentes em quantidades vestigiais (BILIA *et al.* 2014), no entanto, em alguns OEs, a quantidade do composto principal pode

chegar a mais de 90% (SUTILI et al. 2015). O linalol é um composto encontrado em muitos OEs de espécies vegetais, sendo majoritário no OE de *L. alba*. Trata-se de um álcool terciário, de fórmula química $C_{10}H_{18}O$, com coloração amarelada, odor adocicado e herbáceo.

Alguns trabalhos com a utilização de linalol em peixes foram conduzidos e apresentaram resultados significativos. Heldwein *et al.* (2012), por exemplo, verificou ação gabaérgica do quimiotipo, agindo diretamente nos receptores GABAA (Ácido Gama-Aminobutírico) presentes no Sistema nervoso Central (GABA_{Aa}) e Sistema Nervoso Priférico (GABA_{Ab}), anestesiando o animal a fim de reduzir dor e contrações musculares. Souza, F. C., (2017) avaliou a utilização dos quimiotimos linalol e citral como anestésicos em juvenis de *R. quelen*, indicando apenas a eficácia do linalol como anestésico seguro, sem causar danos teciduais nos jundiás. Além da ação anestésica, Heldwein et al. (2014) e Silva et. al. (2017) constataram propriedades antibacterianas frente a *Aeromonas hydrophyla* em jundiás, sendo o isômero linalol o responsável por essa atividade.

3.20 JUNDIÁ COMO MODELO EXPERIMENTAL

O *R. quelen* é um peixe da família Heptapteridae, conhecido popularmente como jundiá, sendo caracterizado como um dos bagres de água doce nativos no Brasil, com distribuição em toda a América do Sul, mais precisamente do sudeste do México ao centro da Argentina (GOMES et al., 2000; SOUZA, C, F., 2017).

Em seu habitat natural, o jundiá opta por lagos e rios arenosos e profundos, optando por águas calmas, junto as margens e vegetações, onde busca por alimento (BALDISSEROTTO, 2004). É uma espécie onívora, com tendência a carnívora e hábito alimentar noturno. O *R. quelen*, é um peixe de couro, com colorações variando do marrom avermelhado ao cinza claro, sendo popularmente chamados de jundiá amarelo e jundiá preto (BALDISSEROTTO, 2004) e pode ser melhor observado na figura 2.

Figura 2. Exemplar de jundiá, *Rhamdia quelen*.



Fonte: próprio autor

O *R. quelen* é a espécie nativa mais cultivada na região sul do Brasil, despertando interesse econômico devido à sua resistência ao manejo, assim como seu comportamento pacífico e crescimento rápido, adaptação a com boa eficiência alimentar, carne saborosa e sem espinhos intramusculares (BOCHI et al., 2008). Além disto, a espécie apresenta grande apelo científico, sendo utilizado como um modelo experimental em laboratórios para avaliações de eficácia anestésica, hipóxia, estresse oxidativo e crescimento com inclusão de extrativos vegetais (CUNHA et al., 2010, SILVA et al. 2013, GRESSLER et al., 2014, BOAVENTURA et al., 2021).

3.3 HIPÓXIA E ESTRESSE DE PEIXES

Segundo Silva et. al. (2020), organismos aquáticos são altamente susceptíveis ao estresse por estarem imersos em ambientes com características físico-químicas mutáveis, necessitando de constante adaptação para manutenção das suas condições homeostáticas. A procura por um sistema cada vez mais intensivo muitas vezes implica em um desequilíbrio produtivo. A elevação desordenada da densidade de estocagem dos tanques, assim como a baixa oxigenação da água, torna-se estímulos estressores para os peixes, perturbando a homeostase da espécie.

A disponibilidade de oxigênio em ambiente aquático é reduzida quando em comparação com o ambiente terrestre e suas variações são frequentes devido a diversidade dos fatores internos e externos (TRIPATHY, 2016), exigindo respostas

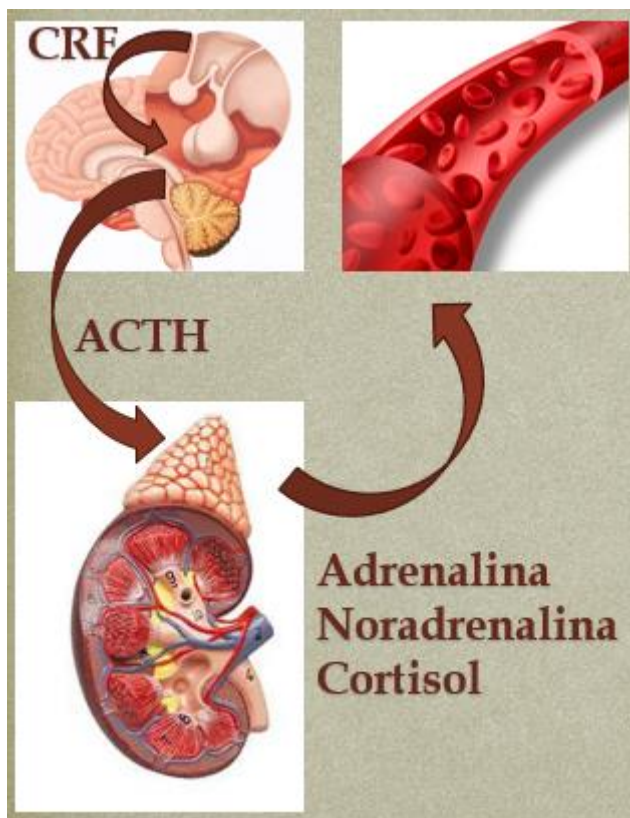
fisiológicas adaptativas aos organismos aquáticos. A hipóxia pode ser fisiologicamente definida como uma redução de pressão do oxigênio da água, reduzindo assim a concentração de oxigênio no sangue (FARRELL & RICHARDS, 2011).

Segundo Baldisserotto (2018), as alterações dos níveis de oxigênio dissolvido na água podem ocorrer de forma ambiental, através da deposição de matéria orgânica e aumento da temperatura, como fisiológica, com o consumo de oxigênio através da respiração dos organismos aquáticos presentes no sistema. Animais em fases iniciais de crescimento, apresentam naturalmente uma maior sensibilidade imunológica, e quando são submetidos a estresse intenso (como transporte, desnutrição ou hipóxia) reduzem as respostas fisiológicas do organismo, perdendo sua adaptabilidade, reduzindo crescimento e bem-estar (WENDEELAR, 1997).

Respostas imunológicas são ações integradas, porém escalonadas. Quando um animal é exposto a uma atividade estressora, sua resposta primária ao estímulo é iniciada no cérebro, através do eixo hipotálamo – hipófise – adrenal. Ao perceber o risco, automaticamente ocorre a liberação do hormônio adrenocorticotrófico (CRF) no hipotálamo. A presença deste hormônio no organismo do peixe estimula a produção de corticotrofina (ACTH) na hipófise, que por sua vez entra na corrente sanguínea, estimulando a produção de adrenalina, noradrenalina e cortisol pela glândula suprarrenal (BARTON, 2002; GORISSEN & FLICK, 2016).

Em consequência a esta resposta, as reações imediatas desses hormônios no sistema circulatório originam uma resposta secundária no organismo dos peixes, caracterizadas pela disfunção metabólica de hiperglicemia, elevação os batimentos cardíacos, contratura muscular e elevação do transporte de oxigênio pelas hemoglobinas (BALDISSEROTTO, 2018), mobilizando energia para a resposta de “fuga ou luta” ao agente estressor (figura 3). Em situações estressoras constantes, há uma limitação da tolerância imunológica e da capacidade produtiva (resposta terciária), diminuindo o desempenho zootécnico e reprodutivo dos peixes, e elevando as possibilidades de enfermidades (LIMA et al., 2006).

Figura 3. Resposta imunológica ao estresse



Fonte: próprio autor.

3.4 MARCADORES DE ESTRESSE EM PEIXES

A fim de avaliar os efeitos fisiológicos causados pelo estresse nos peixes, parâmetros metabólicos (hematológicas ou teciduais), assim como marcadores do estresse oxidativo podem ser avaliados, indicando as respostas imunes e produtivas da espécie.

3.4.1 Parâmetros metabólicos

As diversas avaliações dos parâmetros metabólicos são de suma importância para o diagnóstico de enfermidades e estresse nos peixes, pois nessas análises

conseguimos avaliar as respostas fisiológicas ao estresse, como a alteração de cortisol, glicose, glicogênio, lactato, proteínas e outras.

Segundo Aluru e Vijayan (2009), o cortisol (hormônio corticosteroide), apresenta efeitos sobre o metabolismo de carboidratos, proteínas e lipídios. Isso se dá devido a ação deste hormônio na gliconeogênese hepática, consumindo as reservas metabólicas para proporcionar a hiperglicemia e permitir que o animal tenha energia extra para superar situações que envolvam mudanças, sendo elas físicas ou fisiológicas.

Por ser a principal e mais rápida fonte de energia para os peixes, a glicose surge como uma resposta secundária a situação de estresse dos peixes. Quando seus níveis não são suficientes para suprir as demandas energéticas e a homeostase do animal, a reserva de glicogênio é consumida (SILVEIRA, et al., 2009).

A hidrólise das ligações peptídicas da proteína, assim como a lipólise, também surge como alternativa para repor os níveis energéticos no animal em situações de estresse, e isso se dá pela elevação dos níveis de corticosteroide (MARTINS R. R., et al., 2004). Portanto, a avaliação das proteínas totais é considerada um bom indicador de resposta do organismo a situações de estressoras. Segundo SOUZA, C. F. (2017), as proteínas são constituídas basicamente por albumina e globulinas, e constituem a parte estrutural dos órgãos. Elas atuam no transporte de muitos constituintes do plasma e da defesa do organismo, além de atuarem no catabolismo enzimáticos das reações bioquímicas.

Por fim, mas não menos importante, as grandes concentrações de lactato no organismo do animal servem como avaliação de parâmetros metabólicos. A presença constante deste produto gera uma acidose metabólica por hiperacidez no tecido muscular. O acúmulo de ácido láctico decorrente da elevação da atividade física, comprova a exposição do animal a um agente estressor (SILVEIRA et al, 2009).

3.4.2 Marcadores de estresse oxidativo

A toxicidade celular do oxigênio pode ocorrer devido a sua biotransformação em espécies reativas ao oxigênio. Segundo BARBOSA et. al. (2010), essas EROs são compostas por radicais livres, (radicais superóxido e hidroxila), ou por agentes oxidantes não radicais (peróxido de hidrogênio).

Segundo Halliwell; Gutteridge (2007), agentes antioxidantes são conceituados por quaisquer substâncias com ação de dificultar, prevenir ou remover o dano oxidativo de uma molécula. Quando o animal está em homeostase, sua atividade celular também apresenta equilíbrio oxidativo, mas basta uma atividade estressora para comprometer o sistema de defesa antioxidante e causar desequilíbrio oxidativo, gerando danos metabólicos nos peixes (LUSCHAK, 2016). Este sistema de defesa é composto por mecanismos enzimáticos e não enzimáticos. As enzimas antioxidantes mais abundantes no organismo dos peixes são a superóxido dismutase (SOD), a catalase (CAT), a glutaciona peroxidase (GPx) e a glutaciona-S-transferase (GST), enquanto que a glutaciona reduzida (GSH) é considerada como o principal antioxidante não enzimático (FARREL et al., 2011).

Em uma situação de estresse oxidativo a primeira espécie reativa ao oxigênio formada é o radical superóxido ($O_2^{\bullet-}$), e pode agir como oxidante ou como redutor, dando origem a outras espécies reativas. A primeira enzima antioxidante, responsável por catalisar o radical superóxido, é a SOD. O resultado dessa reação é a formação do peróxido de hidrogênio (H_2O_2), que por sua vez, será degradado pela CAT ou pela GPx (RIBEIRO et al., 2005).

Segundo Souza et al. (2017), a catalase é uma peroxidase que degrada o peróxido de hidrogênio em oxigênio e água, e sua maior eficiência se dá em grandes concentrações intracelulares de H_2O_2 . Já a glutaciona peroxidase, é considerada a principal enzima em peixes e apresenta melhores respostas antioxidantes quando os níveis de H_2O_2 são mais baixos. Ela é responsável pelo final da primeira fase do processo antioxidativo, convertendo a GSH à glutaciona oxidada, removendo H_2O_2 e formando água. A partir disso, entendemos a importância destas enzimas para a homeostase e integridade celular dos peixes.

A segunda fase de defesa antioxidante é originada a partir da GST, que envolve reações de conjugação na presença da GSH, na detoxificação e eliminação de compostos eletrofílicos. A glutaciona reduzida também auxilia na degradação de

peróxidos endógenos, formação de moléculas bioativas, detoxificação de toxinas e participação no transporte de aminoácidos (STAMLER; SLIVKA, 1996).

Em situações de baixa imunológica por estresse, a defesa antioxidante torna-se insuficiente, o que permite a ocorrência de danos aos lipídios, sendo esta, a principal causa de lesões e morte celular de peixes. Para mensurar o dano tecidual, a peroxidação lipídica é quantificada pela formação de malondialdeído (MDA).

O estresse oxidativo também pode conferir danos proteicos, a partir da oxidação celular. A diferença é que neste processo há poucos mecanismos celulares de reparo ou proteção, muitas vezes tornando o dano irreversível. Neste caso, a quantificação ocorre através da carbonilação de proteínas, que é considerado o pior dano causado pelas EROs (SOUZA, 2017). O aumento da concentração destas proteínas resulta em diversas doenças, fazendo das proteínas carboniladas um biomarcador de estresse oxidativo (HERMES-LIMA, 2004).

REFERÊNCIAS

- ALURU, N.; VIJAYAN, M. M. Stress transcriptomic in fish. A role for genomic cortisol signaling. **General and Comparative Endocrinology**, v. 164, p. 142-150, 2009.
- ANUÁRIO DA PESCA. **The state of world fisheries and aquaculture**. Meeting the sustainable development goals. p 210, 2018.
- ANUÁRIO DA PISCICULTURA **PEIXE-BR**. Brazilian fish farming production grows 4.5% and reaches 722.560 tons. 2019.
- AWAD, E.; AWAAD, A. Role of medicinal plants on growth performance and immune status in fish. **Fish and Shellfish Immunology**, v. 67, p. 40-54, 2017.
- BAKKALI, F., AVERBECK, S., AVERBECK, D., IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils - a review. **Food Chemical Toxicology**. 2008, 46, 446-475.
- BALDISSEROTTO, B.; RADUNZ NETO, J. Criação de jundiá. 1ª edição - Santa Maria, Editora UFSM, 2004. 390p.
- BALDISSEROTTO, B. Fisiologia de peixes aplicada à piscicultura. 3ª edição - Santa Maria, Editora da UFSM, 2018. 352p.
- BARBOSA, K. B. F. et al. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. **Revista de Nutrição**, v. 23, n.4, p. 629-643, 2010.
- BARTON, B. A. Stress in fishes: a diversity of responses with particular reference to changes in circulating corticosteroids. **Integrative and Comparative Biology**, v. 42, p. 517-525, 2002.
- BILIA AR, GUCCIONE C, ISACCHI B, RIGHESCHI C, FIRENZUOLI F, BERGONZI MC. Essential oils loaded in nanosystems: a developing strategy for a successful therapeutic approach. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**: 651593, 2014.
- BOAVENTURA, T.; SOUZA, C. F. ; FERREIRA, A. L.; FAVERO, G.; **BALDISSERA, M D.**; HEINZMANN, B. M.; BALDISSEROTTO, BERNARDO; LUZ, RONALD K. The use of *Ocimum gratissimum* L. essential oil during the transport of *Lophiosilurus alexandri*: Water quality, hematology, blood biochemistry and oxidative stress. **AQUACULTURE**, v. 531, p. 735964, 2021.
- BOCHI, V. C. et al. Fish burgers with silver catfish (*Rhamdia quelen*) filleting waste. **Bioresource Technology**, v.99, p.8844- 8849, 2008.
- BRICKNELL, I.; DALMO, R.A. The use of immunostimulants in fish larval aquaculture. **Fish and Shellfish Immunology**, v. 19, p. 457-472, 2005.
- BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods - a review. **Intitute Journal Food Microbiology**. 4: 223-253, 2004

CARSON CF, HAMMER KA. Chemistry and Bioactivity of Essential Oils. In: Thormar H (ed.) **Lipids and Essential Oils as Antimicrobial Agents**, p. 203–238, 2011.

COIMBRA, J.L.; SOARES, A.C.F.; GARRIDO, M.S.; SOUZA, C.S.; RIBEIRO, F.L.B. Toxicidade de extratos vegetais a *Scutellonema bradys*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 41, n. 7, p. 1209-1211, 2006.

CUNHA, M.A., et al. Essential oil of *Lippia alba*: A new anesthetic for silver catfish, *Rhamdia quelen*. **Aquaculture**, v. 306, p. 403-406, 2010.

FAO – Food and Agriculture Organization of United Nations. 2020a. **The State of World Fisheries and Aquaculture**. – Disponível em: < <http://www.fao.org/3/a-i5555e.pdf> >. Acesso em: maio. 2021.

FARRELL, A.P; CECH, JJ; RICHARDS, J.G; STEVENS, E.D. (Eds). **Encyclopedia of fish physiology: from genome to environment**. Ed: Elsevier, 2011. 2266 p.

GOMES, L. C.; GOLOMBIESKI, J. I.; GOMES, A. R. C.; BALDISSEROTTO, B. Biologia do jundiá *Rhamdia quelen* (Teleostei, Pimelodidae). **Ciência Rural**, v. 30, n. 1, p.179-185, 2000.

GORISSEN, M., Flik, G. 2016. The endocrinology of the stress response in fish: An Adaptation-Physiological View. pp. 75-111. In: Schreck, C.B., Tort, L., Farrell, A.P., Brauner, C.J. (Eds). *Fish Physiology: Biology of Stress in Fish*, Academic Press, 35: 75- 20 111. 590p.

GRESLER, L. T. et al. Silver catfish *Rhamdia quelen* immersion anaesthesia with essential oil of *Aloysia triphylla* (L'Hérit) Britton or tricaine methanesulfonate: effect on stress response and antioxidant status. **Aquaculture Research**, v. 45, p. 1061-1072, 2014.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. **Free Radicals in Biology and Medicine**. Nova York: Oxford University Press, v.1, 851p, 2007.

HELDWEIN, C. G. et al. Participation of the GABAergic system in the anesthetic effect of *Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown essential oil. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 45, n. 5, p. 376-472, 2012.

HELDWEIN, C. G. et. al. S-(+)-linalol from *Lippia alba*: sedative and anesthetic for silver catfish (*Rhamdia quelen*). **Veterinary Anesthesia and Analgesia**: v. 41, n.6, p.621-629, 2014.

HERMES-LIMA, M. **Oxygen in biology and biochemistry: role of free radicals**. In: STOREY, K.B. (ed.) *Functional metabolism: regulation and adaptation*. New York, John Wiley & Sons, Inc., p. 319-368, 2004.

LIMA, L. C.; RIBEIRO, L. P.; LEITE, R. C.; MELO D. C. Estresse em peixes. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.30, p. 113-117, 2006.

LUSHCHAK, V.I. 2016. Contaminant-induced oxidative stress in fish: a mechanistic approach. *Fish Physiology and Biochemistry*, 42: 711-747.

MARTINS R. R.; CARVALHO, E. G.; URBINATI, E. C. Physiological responses associated with capture and crowding stress in matrinxã *Bryconcephalus matrinxã* (Gunter, 1869). **Aquaculture Research**, v. 35, p. 245-249, 2004.

MARTINS, M.L. **Cuidados básicos e alternativas no tratamento de enfermidades de peixes na aquicultura brasileira**. In: Sanidade de Organismos Aquáticos. São Paulo: Varela, 2004a. p. 357-370.

MARTINS, M.L. **Manejo sanitário na piscicultura**. In: Sanidade de Organismos Aquáticos. São Paulo: Varela, 2004b. p. 323-332.

ONU – Organização das Nações Unidas. **A ONU e a população mundial**, 2018. Disponível em: <<https://nacoesunidas.org/acao/populacao-mundial/>>

RIBEIRO, S. M. R.; QUEIROZ, J. H.; PELÚZO, M. C. G.; COSTA, N. M. B.; MATTA, S. L. P.; QUEIROZ, M. E. L. R. A formação e os efeitos das espécies reativas de oxigênio no meio biológico. **Bioscience Journal**, v. 21, p. 133-149, 2005.

SACCOL, E. M. H et al. Addition of *Lippia alba* (Mill) N. E. Brown essential oil to the diet of the silver catfish: Na analisys of growth, metabolic and BLOOD PARAMETERS AND THE ANTIOXIDANT RESPONDE. **Aquaculture**, v. 416-417, p. 244-254, 2013.

SHAKYA, S.R. Medicinal uses of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) improves growth and enhances immunity in aquaculture. **International Journal of Chemical Studies**, v. 3, n. 2, p. 83-87, 2015.

SILVA, L. L. et al. Anesthetic activity of Brazilian native plants in silver catfish (*Rhamdia quelen*). **Neotropical Ichthyology**, v. 11, p. 443–45, 2013.

SILVA, L. L., et. al. S-(+)- and R-(-)- linalool: a comparison of the in vitro anti *Aeromonas hydrophila* activity and anesthetic properties in fish. **Anais da Academia Brasileira de Ciência**: v.89, n.1, p.203-212, 2017.

SILVA, L.L., SOUZA, C.F., PARODI, T.V., GINDRI, A.L., PACHECO, P.S., BIANCHINI, A.E., BALDISSEROTTO, B. 2020. Ethanolic extract of *Hyptis mutabilis* (Rich.) Briq.: An effective sedative and antioxidant agent in fish. *Aquaculture*.

SILVEIRA, U. S.; LOGATO, P. V. R.; PONTES, E. C. Utilização e metabolismo dos carboidratos em peixes. **Revista eletrônica Nutritime**, v. 6, p. 817-836, 2009.

SOUZA, C. F. Physiological responses of *Rhamdia quelen* (Siluriformes: Heptapteridae) to anesthesia with essential oils from two different chemotypes of *Lippia alba*. **Neotropical Ichthyology**, 15(1): e160083, 2017.

STAMLER, J. S.; SLIKVA, A. Biological chemistry of thiols in the vasculature and in vascular-related disease. **Nutrition Reviews**, v.54, p.1-30, 1996.

SUTILI, F.J.; LIMA-SILVA, L.; GRESSLER, L.T.; BATTISTI, E.K.; HEINZMANN, B.M.; VARGAS, A.C.; BALDISSEROTTO, B. Plant essential oils against *Aeromonas hydrophila*: in vitro activity and their use in experimentally infected fish. **Journal of Applied Microbiology**, v. 119, p. 47-54, 2015.

TAKAHASHI, N.S. **Nutrição de peixes**. São Paulo: Associação Brasileira de Piscicultores e Pesqueiros, 2011. Disponível em:
<<http://www.abrappesq.com.br/materias.htm> >. Acesso em: dez. de 2020.

TAVARES-DIAS, M.; MARTINS, M.L. An overall estimation of losses caused by diseases in the Brazilian fish farms. **Journal of Parasitic Diseases**. 2017.

TRIPATHY, A. 2016. Oxidative stress, reactive oxygen species (ROS) and antioxidative defense system, with special reference to fish. *International Journal of Current Research in Biosciences and Plant Biology*, 3(10): 79-89.

WENDELAAR BONGA, S. E. The Stress Response in Fish. **Physiological Reviews**. v. 77, p. 591-625,1997.

4 MANUSCRITO

AÇÃO ANTIOXIDANTE DA DIETA CONTENDO LINALOL EM JUVENIS DE JUNDIÁ (*Rhamdia quelen*) EXPOSTOS A HIPÓXIA E REOXIGENAÇÃO

Juan Lameira Dornelles, Flávia Constância de Los Santos de Camargo, Gabriela Monteiro de Andrade, Hugo Napoleão Pereira da Silva, Matheus Dellaméa Baldissera, Carla Cristina Zeppenfeld, Mauro Alves da Cunha*

Laboratório de Fisiologia de Peixes, Departamento de Fisiologia e Farmacologia, Universidade Federal de Santa Maria

*Corresponding author: Mauro Alves da Cunha
Departamento de Fisiologia e Farmacologia
Universidade Federal de Santa Maria
97105-900, Santa Maria, RS, Brazil
Telephone: +55 (55) 3220-9382
E-mail: cunha.mauroalves@gmail.com

Resumo

A fim de reduzir os efeitos estressores da hipóxia e elevar as respostas metabólicas dos peixes, este trabalho visa avaliar as alterações fisiológicas dos diferentes níveis de suplementação de linalol na dieta de juvenis de *Rhamdia quelen* (Jundiás) expostos à hipóxia e reoxigenação, perante parâmetros metabólicos e bioquímicos. Para o ensaio experimental foram utilizados 9 tanques de 50 litros, em sistema de recirculação de água (RAS) e aeração constante. Em cada tanque foram acondicionados 8 juvenis, com peso médio inicial de $18,15 \pm 2,53$ g e comprimento médio inicial de $16,76 \pm 0,66$ cm. A dieta basal do experimento foi formulada incluindo três diferentes concentrações do linalol (0-controle, 0,25 e 1,0 mL de linalol/kg de ração), com três repetições por tratamento. Os animais receberam dieta uma vez ao dia, até aparente saciedade, durante 30 dias. Aos 25 dias, oito animais de cada tratamento foram sedados e eutanasiados (normóxia), 24 horas após, os juvenis restantes foram submetidos a hipóxia. Ao término das 48 h de exposição ao estresse, 8 peixes de cada tratamento, foram coletados, sedados e eutanasiados. Por fim, os animais restantes retornaram a normóxia (pós hipóxia) por 24h e após este período todos os peixes foram coletados, sedados e eutanasiados. Em cada abate, foram coletados tecidos muscular, branquial e hepático e renal. Parâmetros metabólicos e de estresse oxidativo foram analisados. Como principais resultados, obtivemos a redução do lactato, proteínas totais, TBARS e SOD dos animais alimentados com dieta contendo Linalol em comparação ao grupo controle. Concluiu-se que a utilização do Linalol à dieta de juvenis de *Rhamdia quelen*, nas concentrações testadas, tem função antioxidante redutora de estresse oxidativo em jundiás submetidos a situações de hipóxia.

Palavras-chave: Óleo essencial. Linalol. Estresse. Metabolismo.

INTRODUÇÃO

A busca por alta produtividade na piscicultura pode gerar situações de alta densidade, baixa qualidade da água e redução dos níveis de oxigênio dissolvido (OD). A hipóxia é definida como a redução dos níveis de oxigênio dissolvido na água, sendo considerada um dos maiores problemas da piscicultura intensiva, pois causa distúrbios fisiológicos que limitam o crescimento, a reprodução e a imunidade dos peixes, elevando os riscos de enfermidades. A hipóxia pode ser fisiologicamente definida como uma redução de pressão do oxigênio da água, reduzindo assim a concentração de oxigênio no sangue (FARRELL & RICHARDS, 2011).

Segundo Baldisserotto (2018), para a maioria das espécies brasileiras, os níveis ideais de OD para a produção de peixes é de 5-6mg/L, em hipóxia inferior a 3mg/L e letal inferior a 1mg de oxigênio dissolvido por litro de água. Tais valores são influenciados pela altitude, temperatura, presença de substâncias dissolvidas na água e densidade de estocagem dos peixes (VAQUER-SUNYER, C.M. R.; DUARTE, 2008). Por isso a homeostase osmorregulatória é tão importante, a fim de garantir o bom funcionamento celular e o bem-estar dos peixes

Peixes submetidos a situações de estresse por hipóxia temporária ou permanente, tendem a adaptar o organismo à nova situação, reduzindo os níveis metabólicos e elevando o consumo de oxigênio. Através do eixo hipotálamo – hipófise – adrenal, iniciam-se as primeiras respostas imunológicas à hipoxia, com a liberação de catecolaminas, seguida da elevação da frequência respiratória e da redução do fluxo sanguíneo no trato gastrointestinal (BALDISSEROTO, 2018). Após longas situações de hipóxia, nos processos de readaptação do animal à reoxigenação da água, também pode haver estresse oxidativo e produção de espécies reativas a oxigênio.

Para combater estes radicais livres, o sistema de defesa celular é composto por fatores enzimáticos (superóxido dismutase - SOD, catalase - CAT, glutational peroxidase - GPx e glutational-S-transferase - GST), e não enzimáticos (glutational reduzida - GSH) capazes de agir como antioxidantes, dificultando, prevenindo ou removendo o dano oxidativo de uma molécula (HALLIWELL; GUTTTERIDGE., 2007;

FARREL et al., 2011). Esta ação de defesa antioxidante é dividida em três fases, sendo a primeira e a segunda fase responsáveis por elevar a solubilidade em água e reduzir a toxicidade destes xenobióticos. A fase três é onde ocorre o transporte e excreção dos metabólitos para o exterior da célula. A SOD, por exemplo, acelera a conversão de superóxido em peróxido de hidrogênio, enquanto que a CAT realiza a dismutação deste peróxido em água. A GPx, por sua vez, reduz o peróxido de hidrogênio e os hidroperóxidos enquanto a GST desintoxica o organismo. Ela também catalisa a conjugação de GSH e moléculas oxidadas, facilitando a excreção dos compostos tóxicos (LUSHCHAK, 2014).

A utilização dos aditivos naturais pode ser positiva para a piscicultura, elevando a imunidade, reduzindo o estresse, e por consequência, melhorando a produtividade do setor. Em especial o óleo essencial de *Lippia alba*, que quando adicionado à ração de jundiás, possui ação antioxidante (SACCOL et al., 2013) e antibacteriana (CUNHA et. al., 2011), com resultados satisfatórios contra *A. hydrophila* no cultivo de jundiá (OLIVEIRA et. al., 2018).

O linalol é o composto encontrado em muitos óleos essenciais de espécies vegetais, sendo majoritário no óleo essencial de *L. alba*. Heldwein et al. (2012), verificou ação gabaérgica do quimiotipo linalol, agindo diretamente nos receptores GABAA (Ácido Gama-Aminobutírico) presentes no Sistema Nervoso Central (GABAAa) e Sistema Nervoso Priférico (GABAAb), anestesiando o animal a fim de reduzir dor e contrações musculares. Outro resultado semelhante foi visualizado por Souza et al., (2017), que avaliou a utilização dos quimiotimos linalol e citral como anestésicos em juvenis de *R. quelen*, indicando apenas a eficácia do linalol como anestésico seguro, sem causar danos teciduais nos jundiás. Além da ação anestésica, Heldwein et al. (2014) e Silva et. al. (2017) constataram propriedades antibacterianas frente a *Aeromonas hydrophyla* em jundiás, sendo o isômero linalol o responsável por essa atividade

Tendo em vista a grande possibilidade deste composto ser um dos principais causadores dos benefícios constatados em peixes tratados com OELA, o objetivo deste estudo visa avaliar as alterações fisiológicas dos diferentes níveis de suplementação de linalol na dieta de juvenis de *R. quelen* expostos à hipóxia e reoxigenação, perante parâmetros metabólicos e bioquímicos

MATERIAIS E MÉTODOS

Peixes

Para o experimento, os juvenis de jundiás ($18,15 \pm 2,53$ g e $16,76 \pm 0,66$ cm), foram obtidos de fornecedores locais e mantidos no laboratório de Fisiologia de Peixes, da Universidade Federal de Santa Maria (RS, Brasil). Os juvenis foram aclimatados durante uma semana em caixas d'água de 250L, temperatura de $22,05 \pm 0,86$ °C; pH 7,2 e oxigênio dissolvido $6,93 \pm 0,29$ mg/L e alimentados uma vez ao dia, no turno da manhã, até aparente saciedade, com ração controle utilizada no experimento. Durante o período experimental as características de qualidade da água foram verificadas diariamente, de acordo com o recomendado para a espécie. Para tais medições foram utilizados um pHmetro portátil Alfakit, um oxímetro portátil Hanna e kits comerciais de amônia e nitrito labcon. O experimento foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal de Santa Maria, sob o número 6361090518.

Dieta

Foi utilizada uma ração peletizada contendo aproximadamente 30% de PB formulada com base nos protocolos descritos por ZEPPEFELD et. al., (2016). Na tabela 1, se observa os ingredientes e composição nutricional da dieta. Para a realização do experimento, foram adicionadas duas diferentes concentrações de linalol (0,25 e 1,0 mL de linalol/Kg de ração) na dieta controle, totalizando três tratamentos. O composto isolado do óleo essencial foi adquirido de forma comercial através da empresa Sigma-Aldrich. Os animais receberam dieta uma vez ao dia, até aparente saciedade, em consumo médio de 3% de peso vivo, durante 30 dias de experimento.

Tabela 1: Composição nutricional da dieta.

Ingredientes	g Kg
Farelo de soja	300
Farinha de carne e ossos	350
Farelo de arroz	120
Farinha de milho	150
Óleo de canola	30
Sal	10
Premix vitamínico e mineral	30
Fosfato dicálcico	10

*Mistura de vitaminas e minerais (níveis de segurança por quilograma de produto) – ácido fólico: 250 mg, ácido pantotênico: 5.000 mg, antioxidante: 600 mg, biotina: 125 mg, cobalto: 25 mg, cobre: 2.000 mg, ferro: 820 mg, selênio: 75 mg, vitamina A: 1.000.000 UI, vitamina B: 1.250 mg, vitamina B12: 3.750 mg, vitamina B2: 2.500 mg, vitamina B6: 2.485 mg, vitamina C 28.000 mg, vitamina D3: 500.000 UI, vitamina E: 20.000 UI, vitamina K: 500 mg, zinco: 17.500 mg.

Fonte: Autor, adaptado de ZEPPEFELD, et. al., 2014.

Tabela 2: Análise bromatológica da dieta.

Níveis de garantia	g Kg
Teor de Matéria Seca	94.96
Proteína	29.55
Extrato Etéreo	9.95
Matéria Mineral	19.80
Fibra Detergente Ácida	2.91
Fibra Detergente Neutra	24.00

Fonte: Autor, analisado por Laboratório de Bromatologia e Nutrição de Ruminantes da UFSM.

Delineamento experimental

Foram utilizados 72 juvenis de jundiás, divididos em 3 tratamentos (controle, 0,25 e 1,0 ml de Linalol/kg de ração), com n de 8 peixes em triplicata, totalizando 24 peixes por tratamento. Os jundiás foram alocados em tanques de 50 litros, em sistema de recirculação de água e aeração constante. A manutenção dos tanques foi realizada diariamente, pelo processo de sifonagem, 30 minutos após a alimentação dos juvenis.

O experimento apresentou duração de 30 dias e foi dividido em 3 situações. O período referente a normóxia ocorreu do 1º ao 25º dia, onde os animais foram tratados normalmente dentro de seus tratamentos, sem apresentar nenhum estresse por oxigênio. No 26º dia ocorreu a primeira finalização dos peixes para posterior coleta de tecidos. Em cada coleta, oito animais de cada tratamento foram anestesiados por cerca de 3 min com eugenol 50 µL/L e finalizados por secção da medula espinhal para a coleta dos tecidos (cérebro, músculo, brânquias, rim e fígado). Todas as amostras coletadas durante o experimento foram congeladas em um freezer -20 °C para posterior análise (Normóxia, Hipóxia e Reoxigenação).

Hipóxia e reoxigenação

No 26º iniciou-se o processo de retirada do oxigênio dos tanques, através da eliminação da circulação de água do sistema, desligamento dos aeradores e isolamento dos tanques com plástico bolha, evitando a difusão do oxigênio do ar para a água. A partir deste dia não foi mais fornecido ração aos peixes. Os quarenta e oito juvenis de jundiá restantes (da primeira finalização) foram submetidos a estresse de hipóxia na concentração de 2 mg/L de oxigênio dissolvido, por 48h (durante o 27º e 28º dia), oito jundias de cada tratamento foram anestesiados e finalizados para a coleta dos tecidos. Estas amostras para congeladas e identificadas como Hipóxia para posterior análise.

A reoxigenação foi reestabelecida após a hipóxia (a partir do 29º dia). Neste momento o sistema de recirculação e os aeradores foram novamente ligados por 24 h em um tratamento pós hipóxia. Ao final destes 30 dias os peixes foram anestesiados e finalizados para a coleta dos tecidos (cérebro, músculo, brânquias, rim e fígado) e congeladas a -20 °C.

Análise de parâmetros metabólicos

As brânquias e músculo foram utilizados para análise de glicose, proteínas, lactato e triglicerídeos. A proteína total foi determinada pelo método de Comassie. Já a glicose, lactato e triglicerídeos foram quantificados seguindo os kits comerciais de testes rápidos. Para realizar essas análises foi necessário preparar os extratos através da homogeneização dos tecidos com tampão TCA (ácido tricloroacético) e TBA (ácido 2-tiobarbitúrico), segundo a técnica de Park Johnson. Em cada preparo, foram pesadas 0,005 g de tecido, macerados e homogeneizado com tampão por um turrax. Após a finalização do processo os homogenatos foram incluídos em uma centrifuga, por 12 min, a 3000 RPMS e temperatura de 4°C.

Análise de estresse oxidativo

Para as avaliações oxidativas (TBARS, GSH e SOD) foram utilizados as brânquias, cérebro, fígado e rins. O processo inicial destas quantificações, baseia-se na homogeneização dos tecidos com tampão fosfato de sódio 0,3 M (KCl 140 mM, pH 7,4) e fluoreto de fenilmetilsulfonila. Para este procedimento foi utilizado uma balança de precisão pesando 0,005g de tecido e macerando, juntamente com o tampão, em um Turrax. Após a homogeneização, os extratos foram levados para a centrifuga, por 12 minutos, a 3000 RPMs e temperatura de 4°C. Para a análise de TBARS, além destes procedimentos citados, é necessário levar o homogenato para fervura em “banho-maria” por 20 min, à 100°C, até adquirir a coloração rosa. Finalizado este processo, é necessário centrifugar as amostras novamente (BUEGE, J.A., 1978).

Análises estatísticas

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado e os dados foram submetidos aos testes de Shapiro-Wilk (Normalidade) e Levene (homoscedasticidade), utilizando o programa SigmaPlot11. Foi realizada análise de variância de dois fatores (two way ANOVA), seguida do teste de Tukey. O nível de significância utilizado foi de $P < 0,05$ e os resultados foram expressos com média \pm desvio padrão.

RESULTADO

Parâmetros Metabólicos

Brânquias

No tecido branquial, comparando os animais em situação de normóxia, notou-se diferença significativa com redução dos níveis de glicose em animais submetidos à dieta de 0,25 mL de linalol/kg de ração quando comparados com o controle e 1,0 mL de linalol/kg de ração. Quando comparados os tratamentos (controle e 1,0 mL de linalol/kg de ração) individualmente entre as diferentes situações de exposição ao estresse (NMX, HPX e ROX), nota-se uma redução dos níveis glicêmicos em hipóxia e reoxigenação quando comparados com a normóxia. Nesta mesma comparação, os animais submetidos a 0,25 ml de Linalol não apresentaram diferenças significativas (figura 1A).

Já em proteínas, comparando os tratamentos em situação de reoxigenação, observou-se uma redução proteica nos animais suplementados com Linalol (0,25 e 1,0 mL de linalol/kg de ração) quando comparados com o controle. Esta mesma diferença significativa ocorre quando comparamos os mesmos tratamentos em diferentes situações estressoras, obtendo resultados de redução significativa nos níveis proteicos nos animais submetidos a dietas controle e 1,0 mL linalol/kg de ração em sistema de reoxigenação, quando comparados com normóxia e hipóxia. (figuras 1B).

Músculo

Nas análises de proteínas totais no tecido muscular, em normóxia, observou-se uma elevação proteica significativa nos animais suplementados com 1,0 mL de linalol/kg de ração quando comparados com os animais do controle. Esta elevação também foi significativa quando comparados os animais submetidos ao tratamento controle nas situações de hipóxia e reoxigenação (figuras 2B).

A figura 2C representa os índices de lactato no músculo dos peixes. Os tratamentos com inclusão do linalol apresentaram maiores concentrações em normóxia (0,25 e 1,0 mL de linalol/kg de ração), quando comparados à hipóxia e

reoxigenação. Nos triglicerídeos, por sua vez, foi observado uma elevação dos níveis de TAG na reoxigenação (em todas as dietas), principalmente quando comparado com a normóxia (figura 2D).

Figura 1. Parâmetros metabólicos no tecido branquial de juvenis de *R. quelen* submetidos a hipóxia e reoxigenação, alimentados com linalol durante 30 dias.

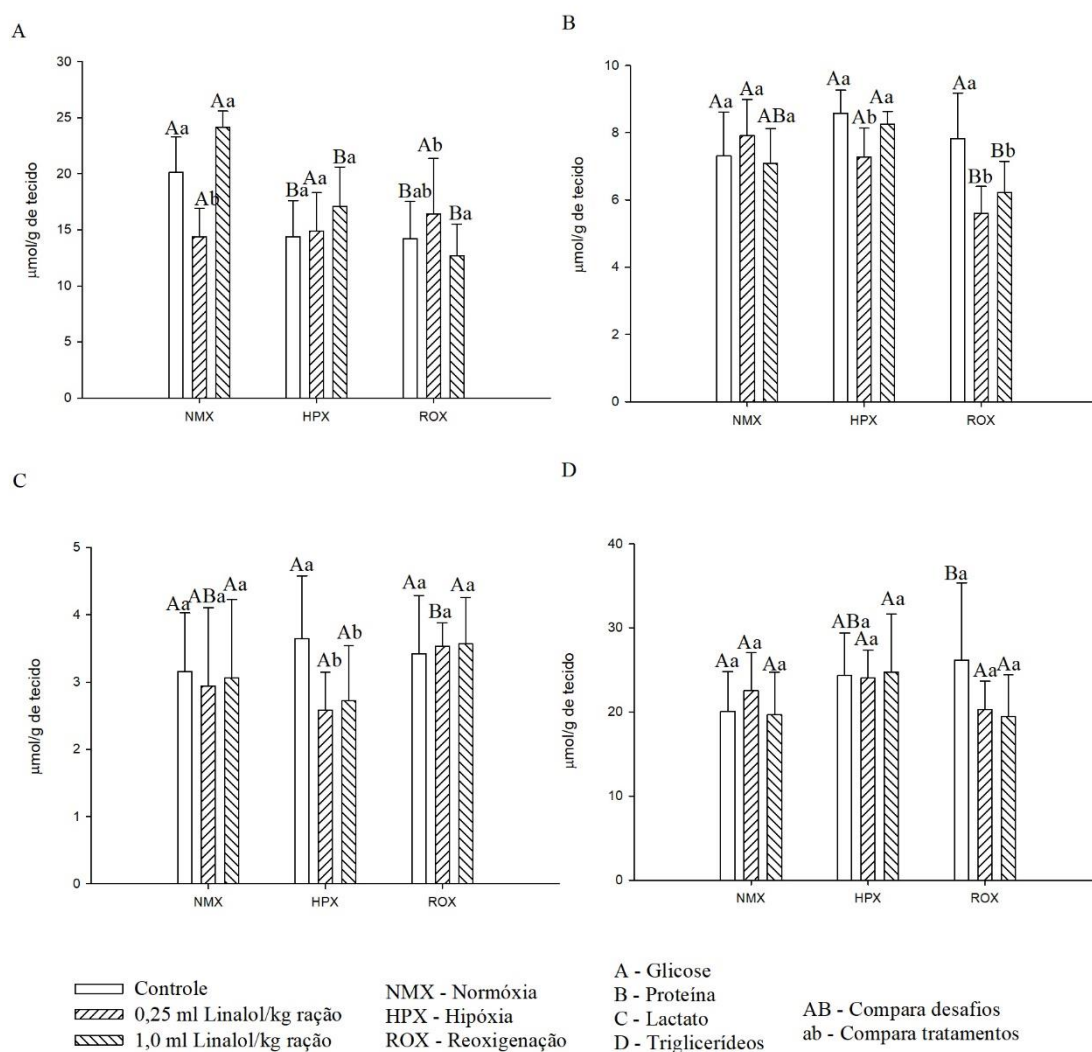
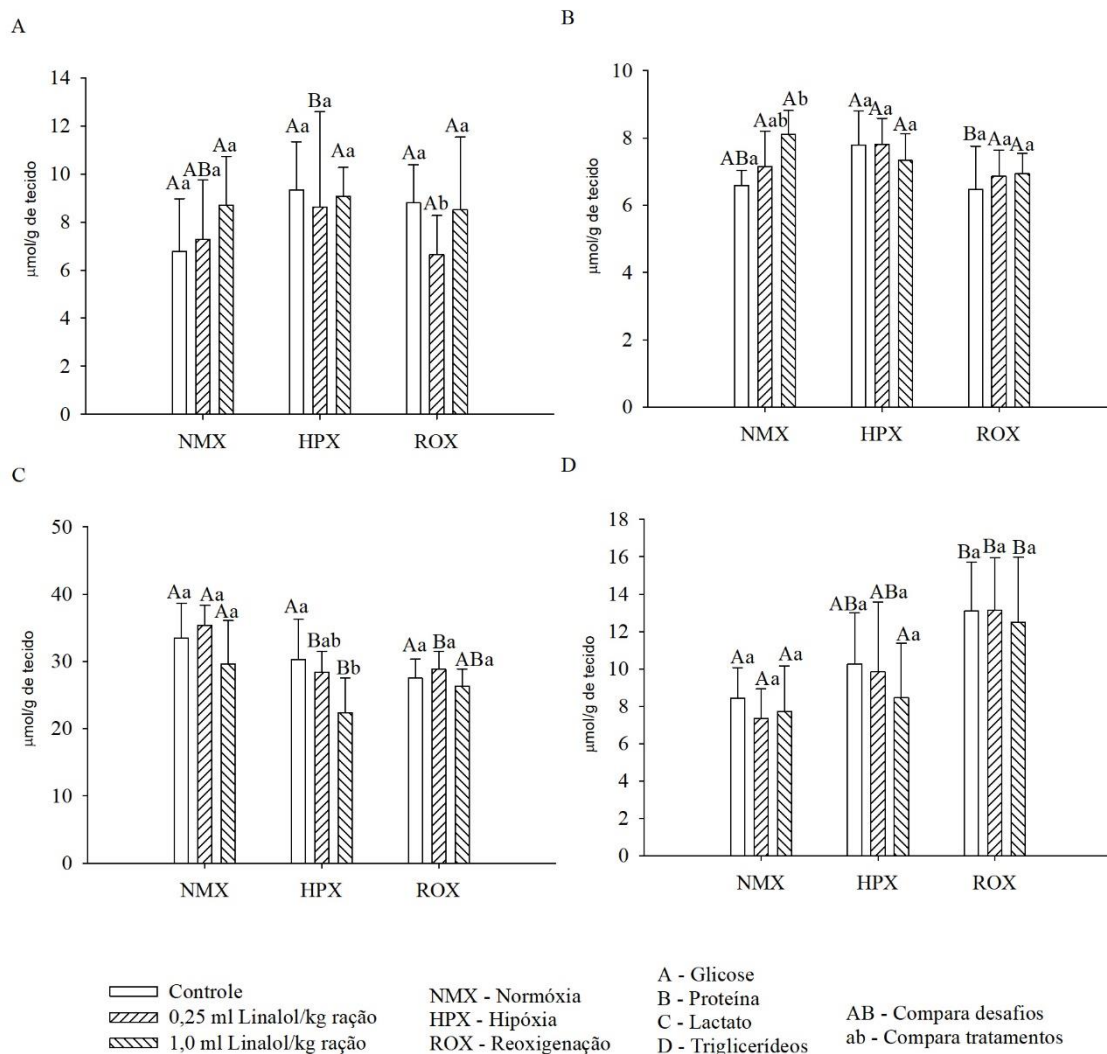


Figura 2. Parâmetros metabólicos no tecido muscular de juvenis de *R. quelen* submetidos a hipóxia e reoxigenação, alimentados com linalol durante 30 dias.



Parâmetros de Estresse Oxidativo

Branquias

No tecido branquial, quando avaliamos os animais no tratamento controle com relação as diferentes situações de desafio (NMX, HPX e ROX), foi observado um aumento nas substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) na hipóxia, em relação à normóxia e reoxigenação. No entanto, em hipóxia, foi observado uma redução do TBARS no tratamento de 1mL de Linalol/kg de ração em relação às dietas controle e 0,25 mL de linalol/kg de ração (figura 3A). No grupo submetido a reoxigenação pós-estresse, houve um aumento significativo da atividade da SOD e da Glutathiona Reduzida (GSH) dentro do tratamento de 0,25 mL de linalol/kg de ração quando comparado com o controle (figuras 3B e 3C).

Cérebro

Ao avaliarmos TBARS, observamos uma redução no tratamento 0,25 mL de linalol/kg de ração quando comparado com o controle e 1,0 mL de linalol/kg de ração na dieta de peixes em normóxia. Quando comparamos as diferentes situações de estresse dentro de um tratamento, notamos uma redução dos índices de TBARS para animais submetidos à dieta contendo 1 mL do linalol/kg de ração em hipóxia e reoxigenação. O mesmo ocorre com animais submetidos a normóxia, hipóxia e reoxigenação na dieta controle (figura 4A).

Segundo a figura 4B, nota-se uma redução significativa da atividade da SOD nos peixes alimentados com linalol (0,25 e 1,0 mL de linalol/kg de ração) na dieta e expostos ao estresse por oxigênio (hipóxia e reoxigenação), quando comparados com os seus respectivos tratamentos controle. No grupo submetido a reoxigenação, houve um aumento da Glutathiona Reduzida (GSH) no tratamento de 0,25 mL de Linalol/kg de ração quando comparado aos demais tratamentos em diferentes situações de estresse (figura 4C).

Figura 3. Parâmetros bioquímicos no tecido branquial de juvenis de *R. quelen* submetidos a hipóxia e reoxigenação, alimentados com linalol durante 30 dias.

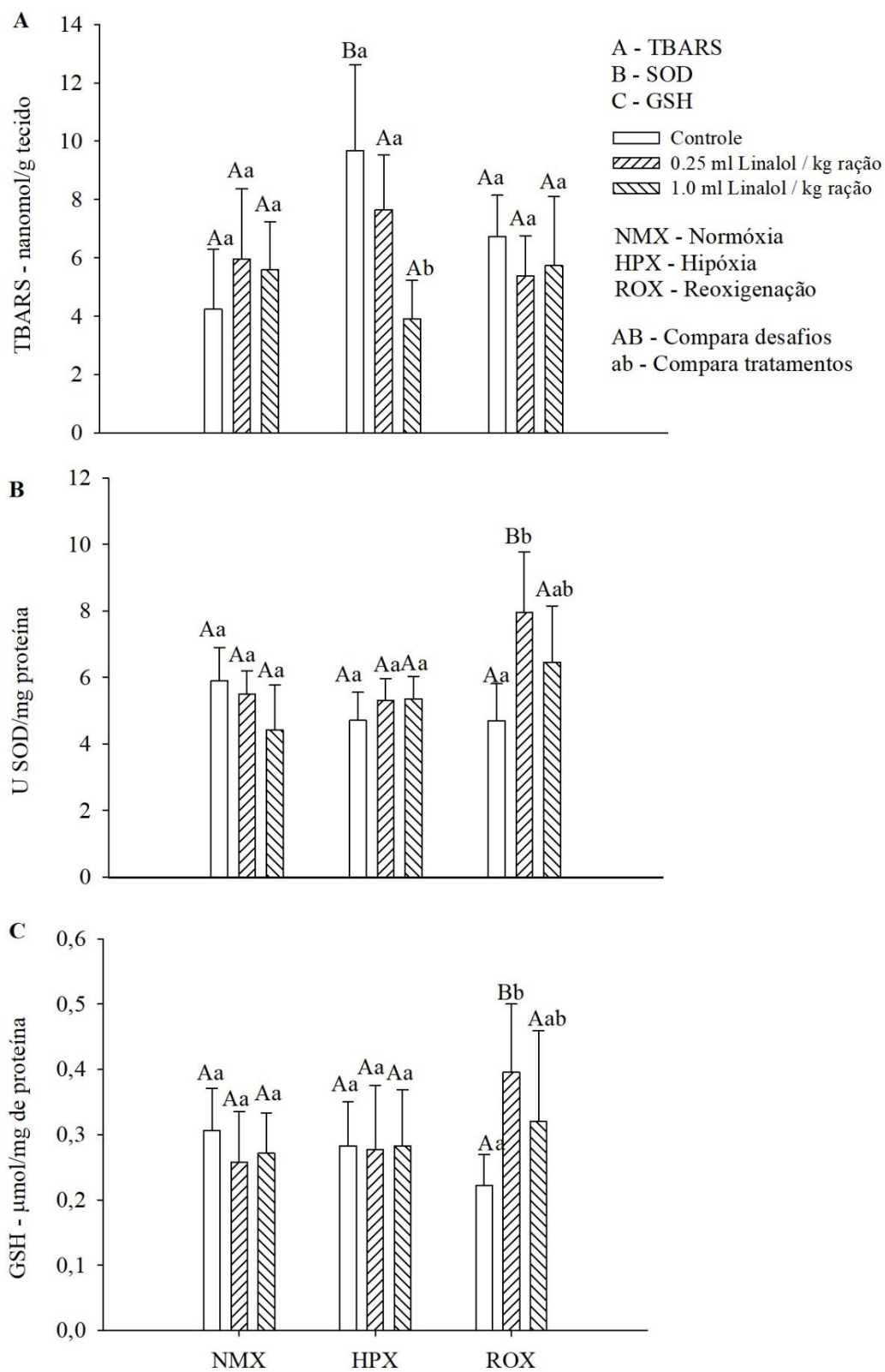
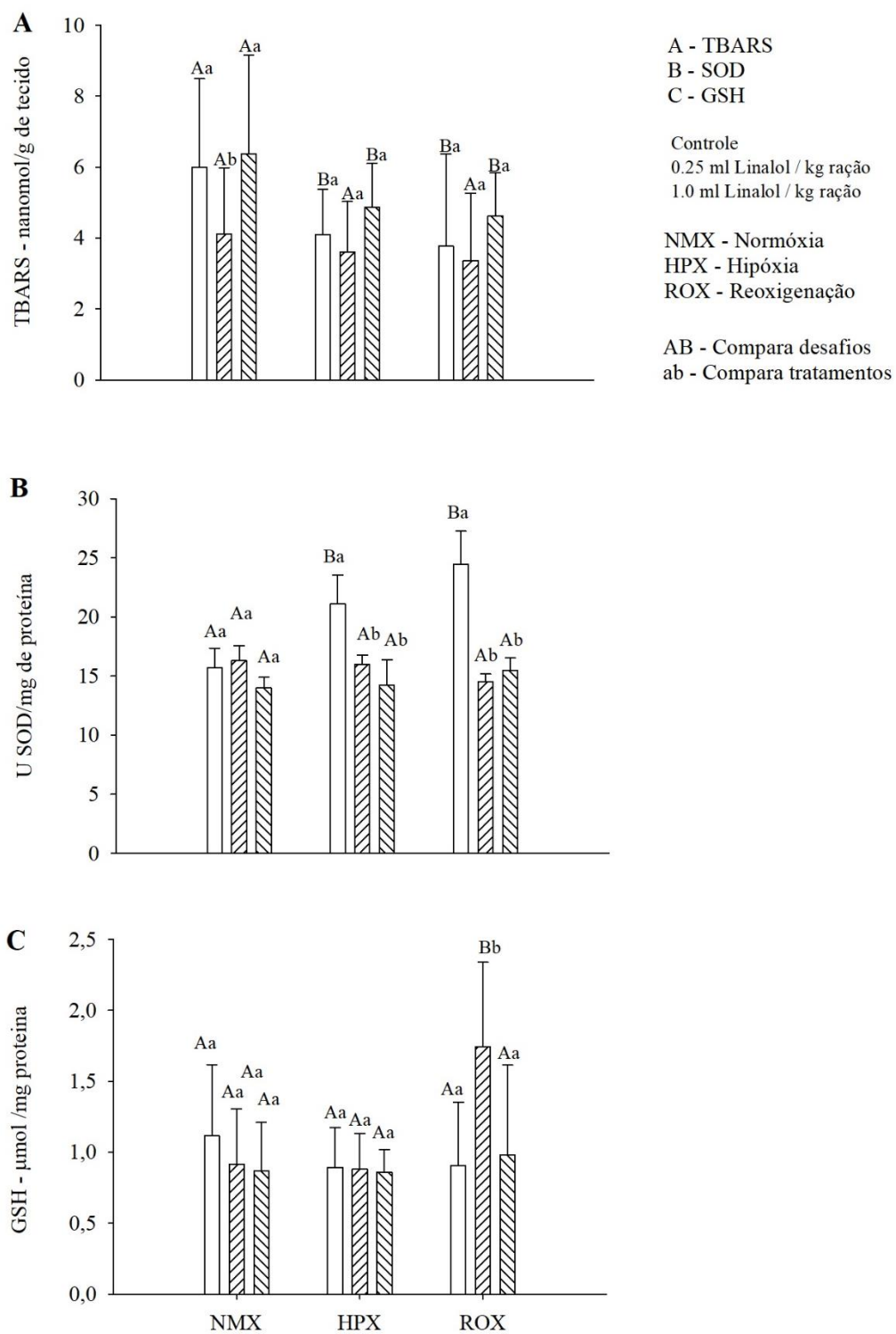


Figura 4. Parâmetros bioquímicos no tecido cerebral de juvenis de *R. quelen* submetidos a hipóxia e reoxigenação, alimentados com linalol durante 30 dias.



Fígado

Na avaliação de TBARS no tecido hepático (figura 5A), foi observado uma redução nessas substâncias nos tratamentos 0,25 e 1,0 mL de linalol/kg de ração em comparação ao controle (normoxia e reoxigenação). Porém quando avaliamos as diferentes situações de desafio (NRM, HPX e ROX) dentro de um único tratamento (controle e depois 0,25 mL linalol/kg de ração), os valores de TBARS em normóxia foram superiores à hipóxia e reoxigenação. Segundo a figura 5B, nota-se um aumento significativo da atividade da SOD nos peixes expostos a dieta controle e 0,25 mL de linalol/kg de ração em normóxia e hipóxia, quando comparado com os animais recebendo as mesmas dietas no sistema de reoxigenação. Quando avaliado GSH (figura 5C) observamos a elevação dos níveis de Glutathiona Reduzida apenas no grupo de animais que receberam dieta contendo 1,0 mL de linalol/kg de ração submetidos à normóxia, quando comparados ao grupo controle.

Rins

Ao avaliarmos os efeitos oxidativos no tecido renal, foi observado uma redução de TBARS no tratamento de 1 mL de linalol/kg de ração, quando comparado aos demais tratamentos em hipóxia. Quando comparadas as diferentes situações de desafio (NMX, HPX e ROX) percebe-se um aumento nas substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico em hipóxia (nos tratamentos controle e depois no 0,25 mL de linalol/kg de ração). Segundo a figura 6B, nota-se uma redução significativa da atividade da SOD nos peixes recebendo 1,0 mL de linalol/kg de ração, em reoxigenação. Quando comparamos as situações de estresse com a normóxia (tratamento 1,0 mL de linalol/kg de ração), notamos a redução da atividade de SOD.

Figura 5. Parâmetros bioquímicos no tecido hepático de juvenis de *R. quelen* submetidos a hipóxia e reoxigenação, alimentados com linalol durante 30 dias.

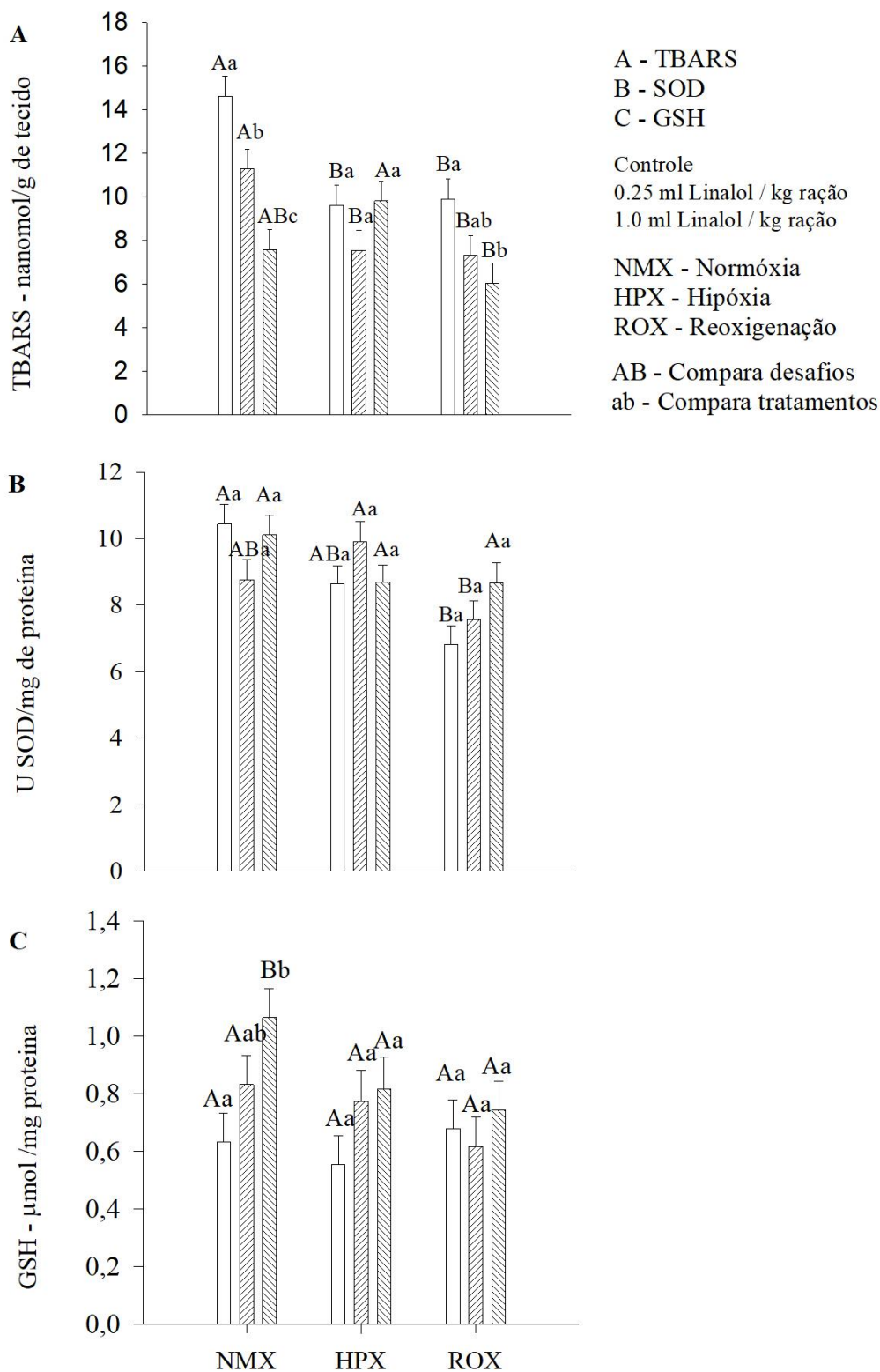
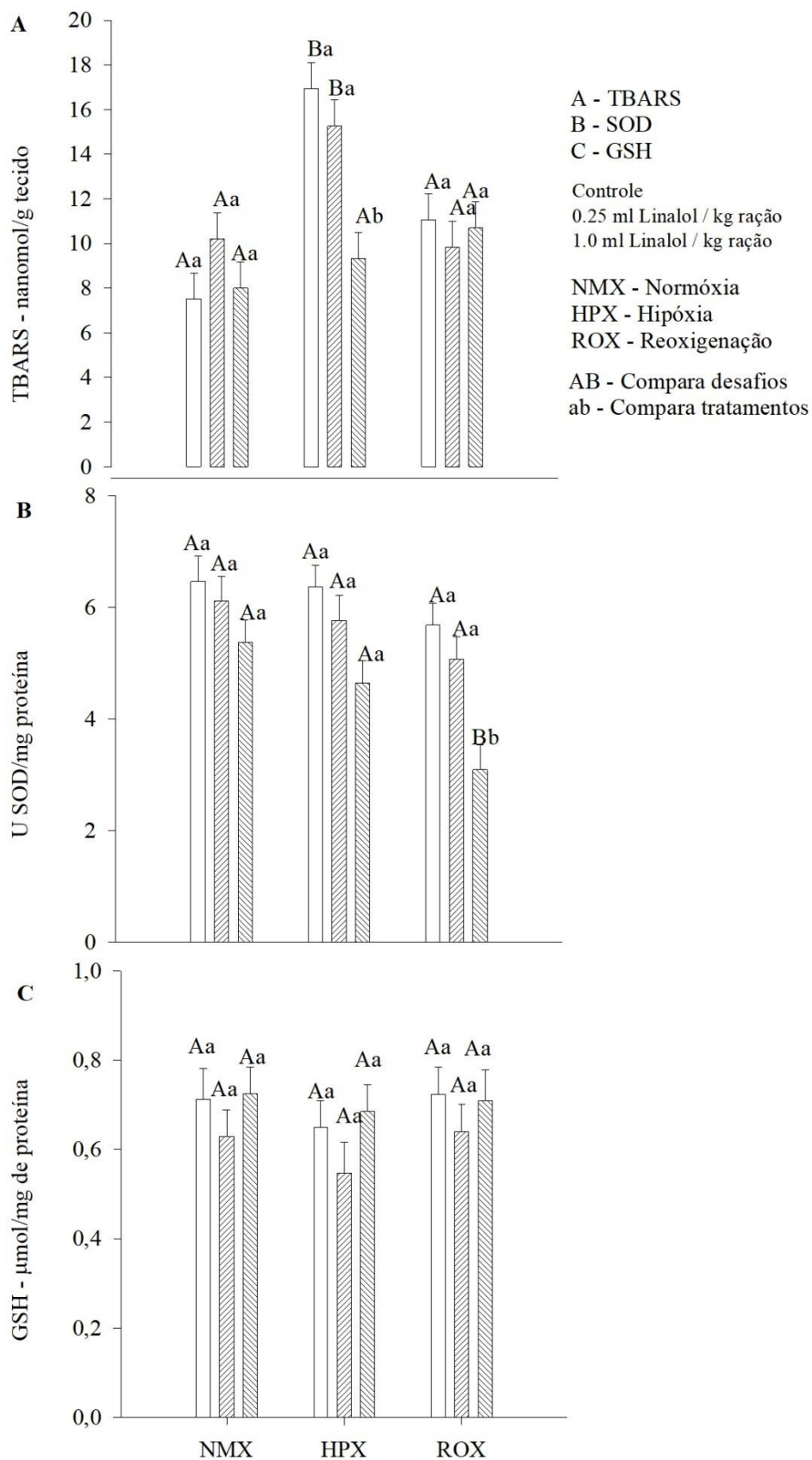


Figura 6. Parâmetros bioquímicos no tecido renal de juvenis de *R. quelen* submetidos a hipóxia e reoxigenação, alimentados com linalol durante 30 dias.



DISCUSSÃO

Em diversos estudos avaliados percebe-se a aprovação de extratos vegetais e óleos essenciais como antioxidantes naturais, elevando a imunidade dos peixes, reduzindo o estresse, e por consequência, melhorando a produtividade das pisciculturas. Nossas análises experimentais indicaram que a utilização do linalol incorporado a dieta de peixes, nas condições propostas (0,25 e 1,0 mL de linalol/kg de ração), pode apresentar resultados benéficos a saúde dos peixes. No presente estudo, não obteve-se mortalidade dos animais mesmo nas situações de estresse.

Considerando os aspectos metabólicos do estudo, os principais resultados foram a redução dos níveis de glicose nas brânquias dos animais submetidos ao desafio quando comparados com a normóxia. Tais resultados podem estar relacionados à glicose por ser a principal e mais rápida fonte de energia disponível, na tentativa de adaptação às mudanças ambientais desfavoráveis à homeostase dos peixes (IWAMA et al., 1994). Zeppenfeld (2014) notou que a adição do OE de *A. triphylla* na água de transporte de jundias reduziu os níveis de glicose do tecido hepático e muscular, sugerindo o metabolismo dos carboidratos como fonte energética durante o transporte.

Outro indicativo na utilização do linalol, é uma notável redução do lactato no músculo dos animais expostos ao desafio de hipóxia quando comparados à normóxia. O lactato é um indicativo do acúmulo do ácido láctico presente no músculo, devido ao aumento da atividade física em situações de estresse (SILVEIRA et. al., 2009). Os juvenis de *R. quelen* submetidos ao linalol, reduziram o lactato do músculo, indicando uma possível eficácia do composto isolado do OELA.

Sena. et. al. (2016), avaliando o transporte de tambacus com inclusão de óleo essencial de *L. alba*, notou uma redução dos níveis de lactato e cortisol no tratamento 10 µL/L EOLA na água, apresentando resultados positivos para o transporte. Em nossa pesquisa, ao alimentar peixes com linalol na dieta, obtivemos redução dos níveis de glicose quanto a baixa significativa encontrada nas análises de lactato, demonstram que o Linalol protegeu os juvenis de *R. quelen* quando expostos a situação de estresse por falta de oxigênio.

A quantificação de proteínas totais é determinante para o diagnóstico de intoxicação por estar diretamente relacionada a capacidade de síntese proteica no fígado e a deficiência renal. (SHALABY; ABASSA, 2009). Quando avaliamos os níveis proteicos diretamente dentro dos controles, nota-se uma redução da proteína total do músculo em animais com reoxigenação quando comparados aos eutanasiados na hipóxia, indicando uma rápida resposta frente a redução proteica pós desafio. Lermen et. al. (2004) notou uma redução das proteínas hepáticas e musculares totais ao expor jundiás à situações de estresse por temperatura (31°C) por 21 dias, fato que pode ser explicado pelo consumo proteico para suprir a demanda energética em situações de estresse crônico. Segundo Hoseini et. al. (2016), essa redução proteica em peixes estressados ocorre pelo fato de, em caso de esgotamentos das reservas de carboidratos e lipídeos, as reservas proteicas são consumidas a fim de adaptar o animal a situação estressora e manter a homeostase corporal.

Avaliando a deposição proteica total nas brânquias, esta mesma redução é visualizada na reoxigenação (figura 1). Além disso, percebe-se diferença significativa na redução proteica entre os animais submetidos ao linalol quando comparados ao controle, indicando o favorecimento do extrato vegetal à dieta dos peixes. Segundo HERMES-LIMA (2004), essa redução proteica, indica uma redução no dano proteico oriundo da oxidação celular, uma vez que ocorre redução da quantificação de proteínas carboniladas. Ao quantificar os triglicerídeos do músculo, notou-se uma elevação dos níveis de TAG na reoxigenação, principalmente quando comparado com a normóxia. Tal fato provavelmente ocorre devido a utilização dos TAGs serem as principais reservas lipídicas do organismo, as quais em situação de estresse, elevam suas reservas energéticas.

Analisando os parâmetros de estresse oxidativos do estudo, verificamos a presença de peroxidação lipídica em determinadas situações, porém com resultados positivos para a redução de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico no fornecimento do linalol.

Avaliando o TBARS nas brânquias, compara-se individualmente o tratamento controle nas diferentes situações de desafio (normóxia, hipóxia e reoxigenação) e fica notável a percepção de elevação dos níveis de TBARS em hipóxia, sendo um ótimo indicativo do efeito esperado do estresse oxidativo para o experimento.

A redução das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico do tecido branquial no tratamento de 1,0 ml linalol/kg de ração (hipóxia), quando comparado ao controle e 0,25 ml de linalol, indicando o efeito antioxidante. No cérebro observou-se uma resposta positiva, com redução do TBARS no tratamento 0,25 ml de linalol quando comparada aos demais tratamentos em normóxia. Ao avaliar o tecido hepático, observou-se uma redução de TBARS nos tratamentos contendo linalol, quando comparados ao grupo controle em normóxia e reoxigenação. Já nos rins, em hipóxia, observou-se uma redução das substâncias reativas ao ácido no tratamento de 1 ml de linalol por kg de ração quando comparado aos demais tratamentos. Os níveis reduzidos de TBARS demonstram a ação positiva do Linalol em resposta ao estresse oxidativo. Azambuja et. al. (2011), observou redução de TBARS no fígado de jundiás transportados por 5h ou 6h com OE de *L. alba*. Zeppenfeld et al., (2014) também verificou redução do TBARS no fígado e músculo em juvenis de jundiás submetidos a transporte com *A. triphylla*.

A análise de Superóxido Dismutase é um excelente indicativo da atividade de defesa antioxidante, pois esta enzima é responsável pela eliminação de ROS, formadas pela bioativação de xenobióticos nos tecidos de peixes (SK e BHATTACHARYA 2006). A fim de prevenir danos oxidativos causados pelas ROS frente a situações estressoras, nota-se uma elevação dos níveis de glutatona redutase e superóxido dismutase dos peixes. No tecido branquial dos peixes expostos a reoxigenação, observou-se um aumento significativo da atividade da SOD nos no tratamento de 0,25 ml de linalol quando comparado ao grupo controle. No tecido cerebral, os animais submetidos à dietas contendo Linalol (em hipóxia e reoxigenação), apresentaram uma redução da atividade enzimática de SOD quando comparados com o tratamento controle, indicando o efeito antioxidante do composto. Peixes suplementados com 1 mL de linalol na ração em sistema de reoxigenação, apresentaram redução significativa de SOD quando comparados com o grupo controle e 0,25 ml de composto. Estes resultados sugerem a interferência positiva do linalol na da atividade antioxidante da SOD, em resposta a uma redução do estresse oxidativo. Segundo DESCOVI et al.(2021), os jundiás alimentados com 0,5 mL/kg de OENG em estresse por hipóxia, tiveram uma redução nos atividade a SOD no fígado. Resultados semelhantes foram encontrados em outras pesquisas com *L.*

alba na dieta de jundiás contendo 0,5 e 2,0 mL OE/kg de ração (SACCOL et. al., 2013).

As avaliações de glutathiona reduzida, principal antioxidante não enzimático dos peixes, não apresentaram diferenças significativas nos tecidos analisados. No tecido hepático, os peixes que receberam 1 ml de linalol/kg de ração e submetidos a normóxia, apresentaram elevação dos níveis de GSH quando comparados ao tratamento controle. Nos tecidos branquial e cerebral, os animais que receberam 0,25 mL de linalol que foram submetidos a reoxigenação, apresentaram atividade de GSH superior aos demais grupos (controle e 1,0 mL e linalol/kg de ração).

CONCLUSÃO

Nosso estudo comprovou que a utilização do linalol na dieta de juvenis de *R. quelen* apresentou eficácia, agindo como antioxidante, sendo uma alternativa para a redução e prevenção dos efeitos causados pelo estresse oxidativo nas condições de hipóxia e reoxigenação. As concentrações propostas de linalol na dieta, não afetaram negativamente na mortalidade dos juvenis, permitindo sua utilização como aditivo na formulação de ração.

Os resultados sugerem que a alimentação suplementada com o linalol, nas concentrações testadas (0,25 ml e 1,0 ml/kg de ração) tem função antioxidante quando se desejar inibir o estresse causado por hipóxia, reduzindo o dano oxidativo. A concentração de 1,0 mL de linalol/kg de ração apresentou resultados mais satisfatórios na redução de TBARS no tecido branquial e renal de jundiás induzidos a hipóxia e reoxinação, assim como a redução da atividade enzimática de SOD, quando comparados com o tratamento controle, indicando o efeito antioxidante do linalol.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), a Comissão de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e a Universidade Federal de Santa Maria (UFSM).

REFERÊNCIAS

ANUÁRIO DA PISCICULTURA **PEIXE-BR**. Brazilian fish farming production grows 4.5% and reaches 722.560 tons. 2019

Azambuja, C.R.; MAttiazzi, J.; Riffel, A.P.K.; Finamor, I.A.; Heldweim, C. G.; Baldisserotto, B.; Pavanato, M.A.; Llesuy, S.F. Effect of the essential oil of *Lippia alba* on oxidative stress parameters in silver catfish (*R. quelen*) subjected to transport. *Aquaculture*, v.31, p. 156-161, 2011.

BALDISSEROTTO, B. Fisiologia de peixes aplicada à piscicultura. 3ª edição - Santa Maria, Editora da UFSM, 2018. 352p.

Barcellos, L. J. G.; Kreutz, L. C.; Quevedo, R. M.; Rosa, G. S.; Koakoski, G.; Centenaro, L.; Pottker, E. Influência da cor de fundo e disponibilidade de abrigo na resposta ao estresse do jundiá (*R. Quelen*). **Aquaculture**, v. 288, p. 51-56, 2009.

BUEGE, J.A.; AUST. S.D.; Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymol.* v. 52 p. 302 – 310, 1978

Camargo, J.B.J.; Neto, J.R.; Emanuelli, T.; Lazzari, R.; Costa, M.L.; Losekann, M.E.; Lima, R.L.; Scherer, R.; Augusti, P.R.; Pedron, F.A.; Medeiros, T.S. CULTIVO DE ALEVINOS DE CARPA CAPIM (*Ctenopharyngodon idella*) ALIMENTADOS COM RAÇÃO E FORRAGENS CULTIVADAS. **R. Bras. Agrociência**, v. 12, p. 211-215 2006.

CUNHA, M. A. **Óleo essencial de Lippia alba (Mill.) N. E. Brown como anestésico para peixes**. Tese (Doutorado em zootecnia) – Universidade Federal de Santa Maria. RS, p. 78. 2011.

DIAS, M. T., MARIANO, W. S. **Aquicultura no Brasil: novas perspectivas**. v.2, Produção e Reprodução de Organismos Aquáticos, 2015.

DESCOVI. S.H. **Oleo essencial de Nectandra grandiflora na dieta de jundiá (Rhamdia quelen) antes e depois da hipóxia: estresse oxidativo e desempenho zootécnico**. Dissertação (Mestrado em zootecnia) – Universidade Federal de Santa Maria. RS, p. 51. 2021.

FAO – Food and Agriculture Organization of United Nations. 2020. **The State of World Fisheries and Aquaculture**. – Disponível em: <http://www.fao.org/3/ca9229en/ca9229en.pdf>. Acesso em: maio. 2021.

FARRELL, A.P; CECH, JJ; RICHARDS, J.G; STEVENS, E.D. (Eds). **Encyclopedia of fish physiology: from genome to environment**. Ed: Elsevier, 2011. 2266 p.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. **Free Radicals in Biology and Medicine**. Nova York: Oxford University Press, v.1, 851p, 2007.

HELDWEIN, C. G. et. al. S-(+)-linalol from *Lippia alba*: sedative and anesthetic for silver catfish (*Rhamdia quelen*). **Veterinary Anesthesia and Analgesia**: v. 41, n.6, p.621-629, 2014.

HERMES-LIMA M.; ZENTENO-SAVÍN T. Animal response to drastic changes in oxygen availability and physiological oxidative stress. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology**, v. 133, p. 537-556, 2002

HOSEINI, S.M. Tort, L. Abolhasani, M.H. Rajabiesterabadi, H., (2016). Physiological, ionoregulatory, metabolic and immune responses of *Persian sturgeon, Acipenser persicus* to stress. *Aquacult Res* 47, 3729-3739.

IWAMA, G.K.; ACKERMAN, P.A. Anaesthetics. In: HOCHACHKA, P.W.; MOMMSEN, T.P. (eds) *Biochemistry and molecular biology of fishes*. New York: Elsevier, v. 3, p.1-15, 1994.

LUSHCHAK, V. I. Free radicals, reactive oxygen species, oxidative stress and its classification. **Chemico-Biological Interactions**, v. 224, pg. 164–175. 2014.

Lermen; C. L.; Lappe, R.; Crestani, M.; Vieira, V. P.; Gioda, C. R.; Schetinger, M. R. C.; Baldisserotto, B.; Morais, G.; Morsch, V. M. Efeito de diferentes regimes de temperatura nos parâmetros metabólicos e sanguíneos do jundiá *Rhamdia quelen*. **Aquaculture**, v. 239, ed 1-4, p. 497-507, 2004.

OLIVEIRA, S.R.N.; OLIVEIRA, A.M.S.; BRANDÃO, F.R.; MAJOLO, C.; CHAVES, F.C.M.; CHAGAS, E.C. Toxicidade do óleo essencial de lippia origanoides em tambaqui (*Colossoma macropomum*) e seu efeito frente à aeromonas hydrophila. **Boletim do Instituto da Pesca**. 2018

SACCOL, E. M. H et al. Addition of *Lippia alba* (Mill) N. E. Brown essential oil to the diet of the silver catfish: Na analisys of growth, metabolic and BLOOD PARAMETERS AND THE ANTIOXIDANT RESPONDE. **Aquaculture**, v. 416-417, p. 244-254, 2013.

Sena A. C.; Teixeira, R. R.; Ferreira E. L.; Heinzmann, B. M.; Baldisserotto, B.; Caron B. O.; Schmidt, D.; Couto R. D.; Copatti, C. D. O óleo essencial de *Lippia alba* tem atividade anestésica e é eficaz na redução do estresse de manuseio e transporte em tambacu (*Piaractus mesopotamicus* × *Colossoma macropomum*) **Aquaculture**. v. 465, p. 374-279. 2016.

Shalaby A. M. E.; Abbassa, A. S.; The opposing effect of ascorbic acid (vitamin c) on ochratoxin toxicity in nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Fish Physiology Department, Central Laboratory for Aquaculture Research, 2009.

SILVA, L. L., et. al. S-(+)- and R-(-)- linalool: acomparison of the in vitro anti Aeromonas hydrophyla activity and anesthetic properties in fish. **Anais da Academia Brasileira de Ciência**: v.89, n.1, p.203-212, 2017.

SILVEIRA, U. S.; LOGATO, P. V. R.; PONTES, E. C. Utilização e metabolismo dos carboidratos em peixes. **Revista eletrônica Nutritime**, v. 6, p. 817-836, 2009.

Sk H.U. & Bhattacharya S. (2006). Prevention of cadmium induced lipid peroxidation, depletion of some antioxidative enzymes and glutathione by series of organoselenocyanates. *Environ Toxicol Pharmacol.*, 298-308.

Souza, C.F.; Baldissera, M.D.; Salbego, J.; Lopes, J.M.; Vaucher, R.A.; Mourão, R.H.V.; Caron, B.O.; Heinzmann, B.M.; da Silva, L.V.F.; Baldisserotto, B. Physiological responses of *Rhamdia quelen* (Siluriformes: Heptapteridae) to anesthesia with essential oils from two different chemotypes of *Lippia alba*. **Neotrop. ichthyol.** v.15, 2017.

VAQUER-SUNYER, C.M. R.; DUARTE. **Thresholds of hypoxia for marine biodiversity.** *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 105 (2008), pp. 15452-15457.

WILHELM FILHO, T.D. et al., 2002. Comparison between the antioxidant status of land mammals and divers **Comp. Biochem. Physiol.** A Mol. Integr. Physiol., 133, pp. 885 – 892.

YOANN, T. et al., 2019. Effects of hypoxia on metabolic functions in marine organisms: observed patterns and modelling assumptions within the context of dynamic energy budget (DEB) theory. **J. Sea Res.** 143, 231-242.

ZEPPENFELD, C. C. et al. Essential oil of *Aloysia triphylla* as feed additive promotes growth of silver catfish (*Rhamdia quelen*). **Aquaculture Nutrition**, v. 22 p. 933-940, 2016.

ZEPPENFELD, C. C. et al. Physiological and biochemical responses of silver catfish, *Rhamdia quelen*, after transport in water with essential oil of *Aloysia triphylla* (L'Herit) Britton. **Aquaculture**, v. 418–419, p. 101–107, 2014.

ZEPPENFELD, C. C. **Óleo essencial de *Aloysia triphylla* (L. Hérít) Britton para jundiás: crescimento, transporte, parâmetros bioquímicos, metabólicos e oxidativos.** Tese (Doutorado em zootecnia) – Universidade Federal de Santa Maria. RS, p. 92. 2014.

5 CONCLUSÕES FINAIS

A utilização do Linalol, na dieta de juvenis de *Rhamdia quelen* apresentou eficácia, agindo como antioxidante natural, sendo uma alternativa para a redução e prevenção dos efeitos causados pelo estresse oxidativo.

O metabolismo dos *R. quelen*, para glicose, proteína, lactato e triglicerídeos do músculo e fígado, sofreram alterações no período de 30 dias. O fornecimento do Linalol na dieta dos juvenis de jundiá submetidos a estresse reduziu o lactato e as proteínas totais do músculo e brânquias.

Concentrações de 1,0 mL de Linalol/kg de ração apresentaram resultados satisfatórios na redução de TBARS no tecido branquial e renal de jundiás experimentalmente induzidos a hipóxia e reoxigenação. Assim como a redução da atividade enzimática de SOD nos animais submetidos às dietas contendo Linalol (em hipóxia e reoxigenação), quando comparados com o tratamento controle, indicando o efeito antioxidante do composto Linalol.

No presente estudo, nas concentrações propostas de Linalol na dieta, não afetaram o ganho de peso e a conversão alimentar dos juvenis. O fornecimento do Linalol, nas concentrações ofertadas na dieta, não causou mortalidade aos jundiás, permitindo sua utilização como aditivo na formulação de ração. Indicamos a concentração de 1,0 mL de Linalol/kg de ração de juvenis de jundiás com ação antioxidante na redução e prevenção dos efeitos causados pelo estresse oxidativo em condições de hipóxia e reoxigenação.