

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS - GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
CURSO DE MESTRADO**

**Alternativas para a prevenção e o controle de parasitas de
peixes ornamentais**

WASHINGTON LUIZ GOMES TAVECHIO

**CRUZ DAS ALMAS – BAHIA
DEZEMBRO – 2010**

Alternativas para a prevenção e o controle de parasitas de peixes ornamentais

WASHINGTON LUIZ GOMES TAVECHIO

Biólogo

Universidade Estadual de Maringá, 2000

Dissertação submetida ao Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia e, como requisito parcial para obtenção do Grau de Mestre em Ciência Animal, ênfase em Produção e Manejo de Organismos Aquáticos

Orientador: Leandro Portz

Co-Orientadora: Gislaine Guidelli

CRUZ DAS ALMAS – BAHIA

DEZEMBRO – 2010

FICHA CATALOGRÁFICA

T232

Tavechio, Washington Luiz Gomes.

Alternativas para a prevenção e o controle de parasitas de peixes ornamentais/ Washington Luiz Gomes Tavechio. – Cruz das Almas, BA, 2010. 39- f.: Il.

Orientador: Leandro Portz

Co-Orientadora: Gislaine Guidelli

Dissertação (Mestrado) – Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia.

1. Peixes ornamentais – doenças. 2. Peixes ornamentais - toxicidade. I. Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas. II. Título.

CDD 639.34

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS - GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
CURSO DE MESTRADO

**COMISSÃO EXAMINADORA DA DEFESA DA DISSERTAÇÃO DE
WASHINGTON LUIZ GOMES TAVECHIO**

Prof. Dr. Leandro Portz
Universidade Federal do Paraná
(Orientador)

Prof. Dr. Gilberto Cezar Pavanelli
Universidade Estadual de Maringá

Profa. Dra. Soraia Barreto Aguiar Fonteles
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia

**CRUZ DAS ALMAS – BAHIA
DEZEMBRO – 2010**

DEDICATÓRIA

A minha esposa e ao meu filho.

Ao meu Pai, mãe, irmã e sobrinhas,

A minha família.

Aos meus amigos.

A amiga Veira Pereira (Vera).

A todos que de forma direta ou indiretamente ajudaram do início ao fim deste
trabalho científico.

Aos que fizeram a minha vida mais feliz.

Aos que permitiram que eu aprendesse ainda mais com os erros e acertos.

A vida e a ciência.

Todo menino é um rei

Eu também já fui rei

Mas quá!

Despertei!

(Nelson Rufino e Zé Luiz).

SUMÁRIO

	Página
RESUMO	1
ABSTRACT	3
INTRODUÇÃO	5
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	7
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	12
Capítulo 1	
TOXICIDADE DOS EXTRATOS AQUOSOS DE AMENDOEIRA (<i>Terminallia catappa</i> L.) E DE ALHO (<i>Allium sativum</i> L.) ÀS ESPÉCIES DE PEIXES ORNAMENTAIS ACARÁ BANDEIRA E MATO GROSSO	17
Capítulo 2	
CONTROLE DE ORGANISMOS ASSOCIADOS A PEIXES ORNAMENTAIS UTILIZANDO EXTRATOS AQUOSOS DE AMENDOEIRA (<i>Terminallia catappa</i> L.) E DE ALHO (<i>Allium sativum</i> L)	30
CONSIDERAÇÕES FINAIS	42

RESUMO

Os fitoterápicos, considerados imunoestimulantes, são uma importante alternativa na prevenção e controle de patógenos em piscicultura em substituição ao uso de produtos químicos e antibióticos que, além de serem tóxicos ao peixe, são nocivos ao ambiente, geram resistência e podem afetar a saúde do consumidor. Os extratos aquosos de plantas, entretanto, podem apresentar efeitos tóxicos sobre os organismos aquáticos cultiváveis. Portanto, o presente trabalho teve como objetivo estudar a eficiência de extratos aquosos de amendoeira (*Terminallia catappa*) e de alho (*Allium sativum*), plantas de reconhecido potencial antiparasitário, à duas espécies de peixes ornamentais: o acará-bandeira, *Pterophyllum scalare* e o mato-grosso, *Hyphessobrycon eques*, avaliando anteriormente a sua toxicidade por meio da concentração letal média CL_{50} 96 horas. Os extratos aquosos para os experimentos de toxicidade e de desafios contra organismos associados aos peixes foram obtidos mergulhando-se em água filtrada, folhas secas da amendoeira e bulbilhos de alho amassados, deixando-os em solução por 72 e 24 horas, respectivamente, sendo filtrados posteriormente em papel filtro. Para os experimentos de toxicidade os peixes foram aclimatados por dez dias e a alimentação foi interrompida 24 horas antes dos experimentos. Os experimentos com acará-bandeira e com o mato-grosso foram realizados em sistema estático e delineamento inteiramente casualizado consistido de um controle e cinco tratamentos para amendoeira e para o alho com cinco concentrações diferentes em cada tratamento e em cada espécie de peixe. Os resultados da CL_{50} 96h média, para o acará-bandeira, do extrato aquoso de amendoeira foi de 630,33 mg/L e do alho foi de 571,54 mg/L. Para o mato-grosso, a média da CL_{50} 96h de amendoeira foi de 484,28 mg/L e do alho foi de 355,78 mg/L. Durante os ensaios, os peixes apresentaram agitação, aumento dos batimentos operculares, natação errática e comportamento letárgico. Os valores de concentração letal dos extratos aquosos determinados para o acará-bandeira podem ser classificados como praticamente não tóxicos. Dessa forma, os extratos aquosos de amendoeira e de alho podem ser utilizados para fins terapêuticos para as duas espécies de peixes por serem pouco tóxicos. Para os testes de desafios contra os parasitas desses peixes, estes foram mantidos em aquários em alta densidade e com baixa frequência de manejo para indução das parasitoses. Foi registrada a ocorrência do ectocomensal *Epystilis* sp. e do ectoparasita *Trichodina* sp. em *H. eques*. *Pterophyllum scalare* não desenvolveu

parasitas ou ectocomensais. A alimentação dos peixes foi interrompida 24 horas antes dos testes de desafio contra os organismos associados. Os experimentos com acará-bandeira e mato-grosso foram realizados em sistema estático e delineamento inteiramente casualizado consistido de um controle e dois tratamentos para amendoeira e para alho o alho, com diferentes concentrações para cada um dos extratos. Os resultados obtidos indicaram um controle efetivo de *Epistylis* sp. e *Trichodina* sp. em *H. eques*. Desta forma, os extratos aquosos de amendoeira e de alho podem ser utilizados para fins terapêuticos na piscicultura destas duas espécies, nas concentrações testadas.

Palavras-chave: imunoestimulantes, fitoterapia, controle de patógenos, parasitas, peixes

ABSTRACT

The herbal, considered immunostimulants, are an important alternative in the prevention and control of pathogens in fish as a substitute to the use of chemicals and antibiotics which, besides being toxic to fish, are harmful to the environment, generate resistance and can affect the health of the consumer. The aqueous extracts of plants, however, may have toxic effects on aquatic organisms cultivable. Therefore, this work was to study the efficacy of aqueous extracts of almond (*Terminallia catappa*) and garlic (*Allium sativum*), plants with recognized potential for pest control, the two species of ornamental fish, the angelfish, *Pterophyllum scalare*, and the jewel tetra, *Hyphessobrycon eques*, before assessing its toxicity through median lethal concentration LC₅₀ 96 hours. The aqueous extracts for the experiments and challenges of toxicity against organisms associated with fish were obtained from soaking in water, filtered, dried leaves of the almond and cloves garlic, crushed, leaving them in solution for 72 and 24 hours respectively, and filtered later on filter paper. For toxicity experiments, fish were acclimated for ten days and feeding was stopped 24 hours before the experiments. The experiments with angelfish and the jewel tetra were conducted in a randomized design and consisted of a control and five treatments for almond and garlic with five different concentrations in each treatment and each species of fish. The results of the 96h LC₅₀ average for the angelfish, the aqueous extract of almond was 630.33 mg/L and the garlic was 571.54 mg/L. To the jewel tetra, the average LC₅₀ 96h almond was 484.28 mg/L and the garlic was 355.78 mg/L. During the tests, the fish showed agitation, increased heart opercular, erratic swimming and lethargic behavior. Values of lethal concentration of aqueous extracts derived for the angelfish can be classified as practically non-toxic. Thus, the aqueous extracts of almond and garlic can be used for therapeutic purposes for both fish species because they are slightly toxic. For testing against organisms associated with fish, these were kept in tanks at high density and low frequency management for the induction of parasitosis. The occurrence of ectocomensal *Epystilis* sp. and ectoparasite *Trichodina* sp. was registered only in *H. eques*. *Pterophyllum scalare* not developed ectocomensais or parasites. The fish feed was discontinued 24 hours before the tests against the associated organisms. The experiments with angelfish and jewel tetra were conducted in a randomized design and consisted of one control and two treatments for almond and garlic for the garlic with different concentrations for each of the extracts. The results indicated an

effective control of *Epistylis* sp. and *Trichodina* sp. for *H. eques*. Thus, the aqueous extracts of almond and garlic can be used for therapeutic purposes in these two fish species, in the tested concentrations.

Key words: imunostimulant, phytotherapy, pathogens control, parasites, fish

INTRODUÇÃO

A aquicultura tem demonstrado um acelerado desenvolvimento no Brasil nos últimos anos. Fatores como a pequena variação de temperatura da água e do ar, extensas áreas de lâmina de água disponíveis, desenvolvimento de tecnologias e facilidades na importação de insumos e equipamentos favorecem o seu rápido crescimento (CAMARGO e POUHEY, 2005).

Este crescimento também é evidenciado na piscicultura de peixes ornamentais. As poucas exigências em área, o rápido crescimento dos organismos e o alto valor econômico no mercado nacional e internacional estimulam o ingresso de produtores na atividade (VIDAL Jr., 2007). Isto contribui para diminuir a pressão extrativista sobre as espécies nativas servindo também como uma alternativa de renda aos piscicultores familiares.

De acordo com o Ministério da Pesca e Aquicultura, o Brasil está entre os principais fornecedores de espécies de clima tropical e sua maior produção é proveniente de capturas. Atualmente, a legislação brasileira permite o extrativismo de 180 espécies para fins ornamentais, que abastecem principalmente o mercado externo. O país é o segundo maior exportador da América do Sul e o 17º no mundo, tendo comercializado mais de US\$ 4 milhões em 2005 (RIBEIRO *et al.*, 2009).

As espécies cultivadas estão mais presentes no mercado interno. Entre elas estão espécies exóticas como o kinguio *Carassius auratus* (L. 1758) e o beta *Betta splendens* (Regan, 1910). Entre as espécies nativas apreciadas para a aquariofilia estão o apaiari ou oscar *Astronotus ocellatus* (Agassiz, 1831), o guppy ou barrigudinho *Poecilia reticulata* (Peters, 1859), o néon cardinal *Paracheirodon axelrodi* (Schultz, 1956), o mato-grosso *Hyphessobrycon eques* (Steindachner, 1882), o acará-bandeira *Pterophylum scalare* (Schultze, 1823) e o acará-disco *Symphysodon discus* (Heckel, 1840) (FROESE e PAULY, 2010).

Estas espécies apresentam grande atrativo de cor e beleza sendo de grande interesse para o cultivo e comércio. Destaca-se o acará-bandeira por ser um dos mais belos e populares peixes de águas tropicais (RIBEIRO *et al.*, 2007). Já o acará-disco é um dos mais exportados, apresentando como lado negativo a intensa captura de exemplares nativos e a alta mortalidade durante o processo de transporte.

Dentre as principais enfermidades que atingem as criações de peixes estão as parasitárias, com destaque para as causadas por protozoários, entre elas

ictiobodose, ictiofitiríase e tricodiniose, as causadas por platelmintos como os monogenéticos, metacercárias de digenéticos, por nematóides e as doenças causadas por crustáceos tais como ergasiliose, lerneose e argulose (SENG *et al.*, 2006a, PAVANELLI *et al.* 2008).

Entre as principais doenças de peixes ornamentais dulcícolas estão a doença dos pontos brancos ou ictiofitiríase, as micoses e tricodiniose, além de bacterioses provocadas por agentes oportunistas que aproveitam do estado debilitado dos peixes (EIRAS *et al.*, 2000).

Os principais tratamentos conhecidos para estas enfermidades são ministrados através de banhos terapêuticos utilizando produtos químicos ou fármacos, principalmente, cloreto de sódio (VARGAS *et al.*, 2003), formol (SANCHES *et al.*, 2007), oxitetraciclina (JÚNIOR *et al.*, 2006), permanganato de potássio e sulfato de hidrogênio (SENG *et al.*, 2006b) e sulfato de cobre (PAVANELLI *et al.* 2008). Não há no Brasil legislação específica para o uso desses produtos. Sabe-se, entretanto, que somente devem ser utilizados com a recomendação e acompanhamento de profissional habilitado, respeitando-se o tipo de atividade aquícola exercida e os períodos de carência para cada um deles (MARTINS, 2004).

Muitas desses produtos geram efeitos tóxicos e provocam alterações na saúde dos peixes. Essas substâncias geram resíduos que podem atingir as bacias hidrográficas e expor os organismos aquáticos a altas concentrações de princípios tóxicos (FRACÁCIO *et al.*, 2008). Neste sentido, os testes ecotoxicológicos são uma ferramenta útil para determinação da toxicidade aguda letal (CL₅₀) de compostos químicos, fármacos e extratos naturais, utilizados e preconizados para uso em aquicultura, sobre a biota aquática (CRUZ *et al.*, 2008).

Deste modo, o uso de fitoterápicos e de fatores nutricionais torna-se um caminho alternativo para controlar doenças e minimizar alguns problemas do uso de produtos químicos, como o alto custo, o risco de contaminação durante o manuseio e de contaminação ambiental.

REVISÃO BIBLIOGRAFICA

Em infecções num estágio inicial, a utilização de produtos químicos com fins terapêuticos pode ser uma alternativa eficiente porém sua utilização é restrita ou proibida. Mas muitos desses produtos químicos e fármacos possuem ação restrita, nem sempre eliminam todos patógenos, principalmente em estágios avançados da infecção e, no caso de antibióticos podem promover resistência. De acordo com MARTINS (2004), a administração desses produtos pode trazer ainda consequências para o peixe e ao ambiente. Cabe-se ainda ressaltar que a utilização de produtos químicos deve ser regida por legislação específica e que no Brasil até o momento, apenas dois produtos são registrados para uso em aquicultura (antiparasitário e antibiótico).

O mercado de produtos orgânicos é um setor em expansão e na aquicultura não é diferente. Existe uma preocupação em se comercializar produtos sem contaminações, essencialmente no que diz respeito à piscicultura de corte. No que tange à piscicultura ornamental as principais preocupações relativas ao uso de produtos químicos são os potenciais riscos ao ambiente e os danos que esses produtos podem causar nos organismos cultivados e nos profissionais que os manuseiam. Por esta razão, muita ênfase vem sendo dada a procedimentos profiláticos e uso de produtos alternativos para o controle de doenças infecciosas (CHANSUE e ASSAWAWONGKASEM, 2008).

Produtos homeopáticos vêm se mostrando altamente promissores, tanto na larvicultura e alevinagem, quanto na engorda de peixes (PIAU-JÚNIOR, 2006; MERLINI, 2006). Segundo MERLINI (2006) as empresas que acreditam e investem em produtos naturais têm um grande potencial de crescimento atualmente. Nesse campo, a fitoterapia é uma prática que vem ganhando destaque.

Os fitoterápicos são alternativas de grande potencial para prevenção ou controle de patógenos na aquicultura. Esta se caracteriza pelo uso de diferentes partes de plantas na prevenção e controle de doenças. Apesar do pouco uso, atualmente, é crescente o interesse sobre as substâncias oriundas de plantas como alternativas ao uso de antibióticos e produtos químicos no combate a patógenos em piscicultura.

Ao contrário do que ocorre com produtos químicos e fármacos sintéticos que, geralmente, causam aumento da resistência dos parasitas e têm um elevado

tempo de permanência no ambiente, acredita-se que os extratos vegetais possam causar um desenvolvimento lento de resistência, ser direcionado a espécies-alvo, ser facilmente biodegradáveis, diminuir amplamente a emissão de resíduos e, conseqüentemente, reduzir o impacto ao ambiente (CHAGAS, 2004).

Existe a possibilidade de toxicidade dos extratos vegetais que, provavelmente, ocorra a concentrações baixas e/ou exposição prolongada, em relação a produtos químicos utilizados em aquicultura, e em dependência da espécie de peixe em questão (ZUCKER, 1985).

Uma maneira de se avaliar a toxicidade de um composto é a realização de testes ecotoxicológicos. A avaliação ecotoxicológica é importante para o controle, regulamentação e classificação de novas substâncias tóxicas quanto ao potencial de risco ambiental (CRUZ *et al.*, 2004). O estudo da toxicidade aguda em peixes, determinada pelo cálculo da concentração letal média $CL_{50}(96h)$, pode auxiliar na avaliação do risco ambiental e na determinação de doses seguras para o controle de parasitas em piscicultura. Dessa forma, a toxicidade deve ser um parâmetro testado durante a verificação da eficácia de fitoterápicos (CRUZ, 2005; CHANSUE e ASSAWAWONGKASEM, 2008)

Inúmeras espécies de plantas podem ter grande potencial para uso em aqüicultura, em especial na piscicultura ornamental devido às características desta atividade, geralmente de menor escala (DÜGENCI *et al.*, 2003). Entretanto, no país, existem poucos estudos científicos direcionados, que detectem o potencial dessas plantas como tratamento ou profilaxia para doenças de peixes, as melhores formas de administração e quais tipos de parasitas são mais eficazmente combatidos e prevenidos com o seu uso.

Alguns fitoterápicos efetivos estudados para o uso em piscicultura são extraídos de plantas como amendoeira ou sete-copas (*Terminalia catappa* L.), alho (*Allium sativum* L.), cominho-negro (*Nigella sativa* L.), equinácias (*Echinacea* spp.), manjerona (*Origanum marjorana* L.) e folhas de nim ou neem (*Azadirachta indica* A. Juss.) (CHITMANAT *et al.*, 2005a e b; CRUZ, 2005; JOHN *et al.*, 2007; MESALHY *et al.*, 2007; DIAB *et al.*, 2008).

A amendoeira é conhecida por suas propriedades terapêuticas, entre outras inúmeras aplicações. As folhas desta planta são utilizadas na Ásia há séculos para combater doenças de peixes e aumentar a sua resistência. É bastante utilizada por criadores europeus e aquarofilistas americanos. No Brasil o uso da planta é comum

entre aquarofilistas, sendo utilizada na forma de extrato aquoso das folhas secas dispostas diretamente em áreas de grande circulação de água no aquário (BRASIL, 2005). A recomendação, bem como as formas de aplicação do fitoterápico, são passadas de pessoa a pessoa, algo bastante comum na utilização de plantas medicinais.

A amendoeira ou “Indian almond” como é conhecida em outros países, pertence à espécie *T. catappa*, família Combretaceae. A distribuição natural atinge as áreas costeiras do Oceano Índico na Ásia Tropical até o Oceano Pacífico, mas foi introduzida no Brasil por colonos portugueses. É uma árvore de grande porte que atinge uma altura de 25 a 40 m, florindo e frutificando desde jovens com idade entre 2 e 3 anos, variando de local pra local (THONSON & EVANS, 2006).

BARATELLI (2006) sugere que a atividade alelopática desta planta esteja relacionada com a existência de ácidos vanílico, siríngico, ferúlico, p-cumárico, esteárico e palmítico, da 2-pentadecanona e do beta-sitosterol-3-O-beta-D-glicosídeo. Sugere ainda que a produção desses compostos seja sazonal, pois observou maior produção para as folhas no mês de janeiro, verão, e para os frutos no mês de julho, inverno. Para CHANSUE e ASSAWAWONGKASEM (2008) a atividade antibacteriana está ligada a grande quantidade de taninos presentes em suas folhas.

Suas folhas, frutos e raízes são utilizados como medicamento popular por apresentarem atividade antidiabética (NAGAPPA *et al.*, 2003), antiinflamatória (FAN *et al.*, 2004), estimulante do comportamento sexual e reprodutivo (MONVISES *et al.*, 2009), antibiótica e antifúngica (GOUN *et al.*, 2003) e desinfetante (SANTOS, 2002). Na aquicultura, suas propriedades imunoterapêuticas, antiparasitárias, antibactericidas e antifúngicas em peixes, foram estudadas por pesquisadores da Tailândia, Índia e China, que utilizaram tanto folhas como frutos.

Por meio do uso de extrato aquoso de folhas de amendoeira na concentração de 200 mg/L CHITMANAT *et al.* (2005a) conseguiu reduzir a infecção por fungos nos ovos de tilápias e, com 800 mg/L, eliminou completamente *Trichodina* spp. de juvenis de tilápias do Nilo após 2 dias de tratamento. Constatou ainda que a atividade inibitória sobre a bactéria *Aeromonas hydrophila* utilizando 0,5 mg/mL do extrato aquoso. Sua eficiência também foi evidenciada no controle dos monogenéticos ectoparasitas *Gyrodactylus* spp. e *Dactylogyrus* spp. em kinguios,

eliminando-se todos os parasitas em 2 semanas de tratamento usando 1720 mg/L do extrato aquoso (CHANSUE e TANGTRONGPIROS, 2005).

O alho, *A. sativum* (Liliaceae) é outra planta que apresenta propriedades terapêuticas. É uma planta herbácea, originária da Ásia Ocidental e da Europa e que atinge até 60 cm de altura com folhas pontiagudas, longas e achatadas e bulbo dividido em bulbilhos compridos (“dentes”) e reunidos em um involúcro comum de várias túnicas esbranquiçadas que são facilmente destacáveis (EMBRAPA, 2006).

Em sua composição química destacam-se os óleos essenciais, sais minerais, vitaminas e, principalmente, os compostos sulfurados aliina e alicina. Apresenta um amplo espectro de combate aos microorganismos como bactérias, fungos, protozoários e vírus, além de ser de fácil obtenção. Essas propriedades se devem à alicina, também responsável pelo odor característico da planta, e ao trissulfeto de alila. A alicina (di-propenyl tiosulfinato) é proveniente da transformação da aliina pela enzima alinase logo após o alho ser amassado ou cortado (MARCHIORI, 2009).

O alho deve ser usado preferencialmente na forma de extrato cru, já que a fervura desnatura a alicina perdendo suas propriedades antimicrobianas. Com extrato na concentração de 200 mg/L se conseguiu tratar ovos de enguia parasitados pelo protozoário *Trichodina* spp. (MADSEN *et al.*, 2000). Na Tailândia, CHITMANAT *et al.* (2005b) usando extrato de alho para banhos numa concentração de 800 mg/L conseguiu eliminar 100% do ectoparasita *Trichodina* spp. de juvenis de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) em 2 dias.

Bons resultados também foram conseguidos adicionando-se o alho à ração. Notou-se aumento da resistência à infecção provocada pela bactéria *Pseudomonas fluorescens* em 91,3% dos animais utilizando 3 g/kg de alho na ração durante 3 meses (DIAB *et al.*, 2008). Usando 2,0 g/kg de ração por 45 dias, MARTINS *et al.* (2002) reduziu em 95% a infestação por monogenéticos *Anacanthorus penilabiatus* em pacus (*Piaractus mesopotamicus*). A adição do extrato à ração, segundo os autores, não alterou as propriedades organoléptica da carne dos pacus.

O uso conjugado de alho e cominho negro (Ranunculaceae) também mostra resultados satisfatórios no controle de parasitoses. Uma concentração de 3% de alho e cominho negro adicionados à ração de tilápias durante 90 dias gerou 95% de resistência à infecção pela bactéria *Pseudomonas* spp. (JOHN *et al.*, 2007).

Outros fitoterápicos como cominho negro (DIAB *et al.*, 2008), equinácia (JOHN *et al.*, 2007; MESALHY *et al.*, 2007), nim (CRUZ, 2005), goiaba (DIREKBUSARAKOM *apud* MARTINS, 2004), visco-branco, urtiga e gengibre (DÜGENCI *et al.*, 2003) apresentam resultados satisfatórios no controle de enfermidades, no aumento da resposta imune não específica e na melhora das condições contra infecções em peixes cultivados.

As doenças representam um dos pontos críticos na piscicultura ornamental, mas geralmente são combatidas com químicos de alto custo, na maioria das vezes não regulamentados para utilização, frequentemente preconizados sem o acompanhamento de um profissional habilitado e com grande risco para os seres humanos e para o ambiente. Frente à necessidade de desenvolvimento da piscicultura ornamental como atividade econômica e ambientalmente sustentável, certamente, a adoção de medidas sanitárias naturais representa uma alternativa importante para o combate e prevenção de doenças e somente pesquisas de caráter experimental fornecerão evidências adequadas e confiáveis para a aceitação da sua utilização em escala comercial.

Nesse sentido, a fitoterapia na piscicultura pode ser um campo muito promissor, principalmente relacionado a pesquisas aplicadas em criações de peixes ornamentais que de uma maneira geral, ainda são escassos no Brasil.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BARATELLI, T. G. *Estudo das propriedades alelopáticas vegetais: investigação de substâncias aleloquímicas em Terminalia catappa Linn (Combretaceae)*. (Dissertação de Mestrado em Química de Produtos Naturais. Universidade Federal do Rio de Janeiro), 2006.
- BRASIL, M. As folhas mágicas: *Terminallia catappa*. *Aquarium*, 50: 36, 2005.
- CAMARGO, S. G. O.; POUEY, J. L. O. F. Aqüicultura - um mercado em expansão. *Revista Brasileira de Agrociência*, vol. 11(4): 393-396, 2005.
- CHAGAS, A. C. S. Controle de parasitas utilizando extratos vegetais. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 13(1): 156-160, 2004.
- CHANSUE, N.; ASSAWAWONGKASEM, N. The *in vitro* antibacterial activity and ornamental fish toxicity of the water extract of indian almond leaves (*Terminalia catappa* Linn.). *KKU Veterinary Journal*, 18(1): 36-45, 2008.
- CHANSUE, N.; TANGTRONGPIROS, J. Effect of dried indian almond leaf (*Terminalia catappa*) on monogenean parasite of gold fish (*Carassius auratus*). *Thai Journal of Veterinary Medicine*, 35(1): 55-56, 2005.
- CHITMANAT, C.; TONGDONMUAN, K.; KHANOM, P.; PACHONTIS, P.; NUNSONG, W. Antiparasitic, antibacterial, and antifungal activities derived from a *Terminalia catappa* Linn solution against some tilapia (*Oreochromis niloticus*) pathogens. *Acta Horticulturae*, 678: 179-182, 2005a.
- CHITMANAT, C.; TONGDONMUAN, K.; NUNSONG, W. The use of crude extracts from traditional medicinal plants to eliminate *Trichodina* spp. in tilapia (*Oreochromis niloticus*) fingerlings. *Songklanakarin J. Sci. Technol*, 27(1): 359-364, 2005b.
- CRUZ, C.; MACHADO-NETO, J. G.; MENEZES, M. L. Toxicidade aguda do inseticida paration metílico e do biopesticida azadiractina de folhas de neem (*Azadirachta indica*) para alevino e juvenil de pacu (*Piaractus mesopotamicus*). *Pesticidas: R. Ecotoxicol. e Meio Ambiente*, vol. 14, 93-102 p., 2004.

CRUZ, C. *Aspectos toxicológicos de parathion metílico e de extrato aquoso de folhas secas de nim (Azadirachta indica) para o pacu (Piaractus mesopotamicus) e eficácia no controle de *Monogenea Dactylogyridae**. Jaboticabal. 96 p. (Tese de Doutorado, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho - UNESP), 2005.

CRUZ, C.; CUBO, P.; GOMES, G. R.; VENTURINI, F. P.; GUILHERME, P. E.; PITELLI, R. A. Sensibilidade de Peixes Neotropicais ao Dicromato de Potássio. *J. Braz. Soc. Ecotoxicol.*, v. 3(1): 53-55, 2008.

DIAB, A. S.; ALY, S. M.; JOHN, G.; ABDE-HADI, Y.; MOHAMMED, M. F. Effect of garlic, black seed and biogen as immunostimulants on the growth and survival of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (Teleostei: Cichlidae), and their response to artificial infection with *Pseudomonas fluorescens*. *African Journal of Aquatic Science*, 33(1): 63-68, 2008.

DÜGENCI, S. K.; ARDAB, N.; CANDANA, A. Some medicinal plants as immunostimulant for fish. *Journal of Ethnopharmacology*, 88(1): 99-106, 2003.

EIRAS, J. C.; TAKEMOTO, R. M.; PAVANELLI, G. C. *Métodos de estudo e técnicas laboratoriais em parasitologia de peixes*. Editora da Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 1ª ed., 171p., 2000.

EMBRAPA. *Alho*. Série Plantas medicinais, condimentares e aromáticas. Embrapa Transferência de Tecnologia/Pantanal/Semi-árido, Corumbá, 2p, 2006.

FAN, Y. M.; XU, L. Z.; GAO, J.; WANG, Y.; TANG, X. H.; ZHAO, X. N.; ZHANG, Z. X. Phytochemical and antiinflammatory studies on *Terminalia catappa*. *Fitoterapia*, 75: 253–260, 2004.

FRACÁCIO, R.; CAMPAGNA, A. F.; RODRIGUES, B. K.; VERANI, N. F.; ESPÍNDOLA, E. L. G. Avaliação da toxicidade do endossulfan sulfato sobre juvenis de *Danio rerio* (Cypriniformes, Cyprinidae). *J. Braz. Soc. Ecotoxicol.*, v. 3(1): 15-21, 2008.

FROESE, R.; PAULY, D. (eds.). *Fishbase*: World Wide Web electronic publication. Disponível em: www.fishbase.org, acesso em dezembro de 2010.

GOUN, E.; CUNNINGHAM, G.; CHU, D.; NGUYEN, C.; MILES, D. Antibacterial and antifungal activity of Indonesian ethnomedical plants. *Fitoterapia*, 76: 592–596, 2003.

JOHN, G.; MESALHY, S.; REZK, M.; EL-NAGGAR, G.; FATHI, M. Effect of some immunostimulants as feed additives on the survival and growth performance of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* and their response to artificial infection. *Egypt J. Aquat. Biol. & Fish.*, 11(3): 1299-1308, 2007.

JÚNIOR, D. J. P.; FIGUEIREDO, H. C. P.; CARNEIRO, D. O.; LEAL, C. A. G. Concentração inibitória mínima de oxitetraciclina para isolados de *Aeromonas hydrophila* obtidos de diferentes fontes. *Ciênc. Agrotec.*, vol. 30(6): 1190-1195, 2006.

MADSEN, H. C. K.; BUCHMANN, K.; MELLERAGAARD, S. Treatment of trichodiniasis in eel (*Anguilla Anguilla*) reared in recirculation systems in Denmark: alternatives to formaldehyde. *Aquaculture*, 186: 221-231, 2000.

MARCHIORI, V. F. Propriedades funcionais do alho (*Allium sativum* L.). Disponível em http://www.esalq.usp.br/siesalq/pm/alho_revisado.pdf, 2009.

MARTINS, M. L. Cuidados básicos e alternativas no tratamento de enfermidade de peixes na aquicultura brasileira. In: RANZANI-PAIVA, M. J. T.; TAKEMOTO, R. M.; LIZAMA, M. de los A. P. *Sanidade de Organismos Aquáticos*, São Paulo: Varela, 2004. p.357-370.

MARTINS, M. L.; MORAES, F. R.; MIYAZAKI, D. M. Y.; BRUM, C. D.; ONAKA, E. M.; FENERICK Jr, J.; BOZZO, F. R. Alternative treatment for *Anacanthorus penilabiatus* (Monogenea: Dactylogyridae) infection in cultivated pacu, *Piaractus mesopotamicus* (Osteichthyes: Characidae) in Brazil and its haemathological effects. *Parasite*, Paris, 9: 175-180, 2002.

MERLINI, L. S. *Utilização da Homeopatila 100 em dieta para tilápias do Nilo (Oreochromis niloticus)*. (Tese de Doutorado em Zootecnia, Universidade Estadual de Maringá), 2006.

MESALHY, S.; JOHN, G.; EL-NAGGAR, G.; FATHI, M. Effect of Echinacea on body gain, survival and some hematological and immunological parameters of *Oreochromis niloticus* and their response to challenge infection. *Egypt. J. Aquat. Biol. & Fish.*, 11(3): 435-445, 2007.

MONVISES, A.; NUANGSAENG, B.; SRIWATTANAROTHAI, N.; PANIJPAN, B. The Siamese fighting fish: Well-known generally but little-known scientifically. *Science Asia*, 35: 8–16, 2009.

NAGAPPA, A. N., THAKURDESAI, P. A., VENKAT RAO, N., SINGH, J. Antidiabetic activity of *Terminalia catappa* Linn fruits. *Journal of Ethnopharmacology*, 88: 45–50, 2003.

PAVANELLI, G. C.; EIRAS, J. C.; TAKEMOTO, G. C. *Doenças de peixes: profilaxia, diagnóstico e tratamento*. 3ª Ed. Maringá: Eduem, 3338p, 2008.

PIAU-JÚNIOR, R. *Comportamento morfométrico de fibras musculares brancas e desempenho de alevinos de tilápia do Nilo (Oreochromis niloticus) tratados com metiltestosterona ou núcleo homeopático*. (Dissertação de Mestrado em Zootecnia, Universidade Estadual de Maringá), 2006.

RIBEIRO, F. A. S.; RODRIGUES, L. A.; FERNANDES, J. B. K. Desempenho de juvenis de acará-bandeira (*Pterophyllum scalare*) com diferentes níveis de proteína bruta na dieta. *Boletim do Instituto de Pesca*, 33(2): 195-203, 2007.

RIBEIRO, F. A. S.; CARVALHO JR., J. R.; FERNANDES, J. B. K.; NAKAYAMA, L. Cadeia produtiva do peixe ornamental. *Panorama da Aquicultura*, 19(112): 36-45, 2009.

SANCHES, E. G.; OSTINI, S.; RODRIGUES, V. C. S. Ocorrência e tratamento de monogenoides em alevinos de pampo (*Trachinotus carolinus*) cultivados experimentalmente na região norte do estado de São Paulo. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, 16(1): 1-4, 2007.

SANTOS, E. F. *Atividade antimicrobiana, toxicológica e desinfetante de extrato de Terminalia catappa* L. João Pessoa. 92 p. (Dissertação de Mestrado, Universidade Federal da Paraíba, UFPB), 2002.

SENG, LE. T.; TAN, Z.; ENRIGHT, W. J. Important parasitic diseases in cultured marine fish in the Asia-Pacific region: the parasites. *Aquaculture Asia Pacific Magazine*, vol. 2(1): 14-16, 2006a.

SENG, LE. T.; TAN, Z.; ENRIGHT, W. J. Important parasitic diseases in cultured marine fish in the Asia-Pacific region: control measures. *Aquaculture Asia Pacific Magazine*, vol. 2(2): 25-27, 2006b.

THOMSON, L.A.J.; EVANS, B. *Terminalia catappa* (tropical almond). In: Elevitch, C.R. (ed.). *Species Profiles for Pacific Island Agroforestry. Permanent Agriculture Resources (PAR)*, Holualoa, Hawaii. <http://www.traditionaltree.org>, 2006.

VARGAS, L.; POVH, J. A.; RIBEIRO, R.P.; MOREIRA, H. L. M.; LOURES, B. T. R. R.; MARONEZE, M.S. Efeito do tratamento com cloreto de sódio e formalina na ocorrência de ectoparasitas em alevinos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) revertidos sexualmente. *Arquivos de Ciências Veterinária e Zoologia*. vol. 6(1): 39-48, 2003.

VIDAL Jr., M. V. A produção aquícola de peixes ornamentais. In: *VII Seminário de Aves e Suínos e III Seminário de Aqüicultura, Maricultura e Pesca*, Belo Horizonte, MG, p. 63-74, 2007.

ZUCKER, E. *Hazard evaluation division: standart evaluation procedure acute toxicity test for freshwater fish*. U.S.EPA Publication 540/9-85-006, 1985.

CAPÍTULO 1

TOXICIDADE DOS EXTRATOS AQUOSOS DE AMENDOEIRA (*Terminallia catappa* L.) E DE ALHO (*Allium sativum* L.) À DUAS ESPÉCIES DE PEIXES ORNAMENTAIS¹

¹ Artigo submetido ao Comitê Editorial do Periódico Científico *Boletim do Instituto de Pesca*

TOXICIDADE DOS EXTRATOS AQUOSOS DE AMENDOEIRA (*Terminallia catappa* L.) E DE ALHO (*Allium sativum* L.) À DUAS ESPÉCIES DE PEIXES ORNAMENTAIS

TOXICITY OF AQUEOUS EXTRACTS OF ALMOND (*Terminallia catappa* L.) AND GARLIC (*Allium sativum* L.) FOR TWO SPECIES OF ORNAMENTAL FISH

Washington Luiz Gomes TAVECHIO, Gislaine GUIDELLI e Leandro PORTZ

RESUMO

O uso de produtos alternativos, tais como as plantas medicinais, na profilaxia e no combate de parasitas de peixes ornamentais é considerado útil e eficiente. Entretanto, os extratos aquosos de algumas plantas podem apresentar efeitos tóxicos sobre os organismos aquáticos cultiváveis e sobre a fauna aquática dos cursos d'água. Portanto, o presente trabalho teve como objetivo determinar a toxicidade de extratos aquosos de amendoeira (*Terminallia catappa*) e de alho (*Allium sativum*), plantas de reconhecido potencial antiparasitário, à duas espécies de peixes ornamentais: o acará-bandeira, *Pterophyllum scalare* (Schultze, 1823), e o mato-grosso, *Hyphessobrycon eques* (Steindachner, 1882), por meio da concentração letal média CL₅₀ 96 horas. Os extratos foram obtidos mergulhando-se a folha seca da amendoeira e o bulbilho do alho amassado em água, por 72 e 24 horas, respectivamente, sendo filtrados posteriormente em papel filtro. Os peixes foram aclimatados por dez dias de acordo com normativa do IBAMA e a alimentação foi interrompida 24 horas antes dos experimentos. Os experimentos com acará-bandeira foram realizados em sistema estático e delineamento inteiramente casualizado consistido de um controle e cinco tratamentos para amendoeira nas concentrações 0, 300, 400, 500, 600 e 700 mg/L e para alho nas concentrações de 0, 100, 200, 300, 400 e 600 mg/L. Os experimentos com mato-grosso foram realizados em sistema estático e delineamento inteiramente casualizado consistido de um controle e cinco tratamentos para amendoeira nas concentrações de 0, 200, 300, 400, 600 e 800 mg/L e para alho nas concentrações 0, 300, 400, 500, 600 e 700 mg/L. Os resultados da CL₅₀ 96h média, para o acará-bandeira, do extrato aquoso de amendoeira foi de 630,33 mg/L e do alho foi de 571,54 mg/L. Para o mato-grosso, a média da CL₅₀ 96h de amendoeira foi de 484,28 mg/L e do alho foi de 355,78 mg/L. Durante os ensaios, os peixes apresentaram agitação, aumento dos batimentos operculares, natação errática e comportamento letárgico. Os valores de

concentração letal dos extratos aquosos determinados para o acará-bandeira e mato-grosso podem ser classificados como praticamente não tóxicos ($CL_{50} > 100$ mg/L) de acordo com a classificação de Zucker (1985). Desta forma, os extratos aquosos de amendoira e de alho podem ser utilizados para fins terapêuticos para as duas espécies de peixes por serem pouco tóxicos.

Palavras-chave: concentração letal média, ecotoxicologia, toxicidade, peixes

ABSTRACT

The use of alternative products, such as medicinal plants, in prevention and combating of parasites of ornamental fish is considered useful and efficient. However, these aqueous extracts may have some toxic effects on aquatic organisms cultivated on aquatic fauna and watercourses. Therefore, this study aimed to determine the toxicity of aqueous extracts of almond (*Terminallia catappa*) and garlic (*Allium sativum*), plants of recognized antiparasitic potential, for two species of ornamental fish: angelfish, *Pterophyllum scalare* (Schultze, 1823), and jewel tetra, *Hyphessobrycon eques* (Steindachner, 1882), through the median lethal concentration LC_{50} 96 hours. The extracts were obtained by soaking the dried leaves of the almond and cloves of garlic in water for 72 and 24 hours, respectively, and subsequently filtered on filter paper. The fish were acclimated for ten days according to IBAMA's normative and feeding was stopped 24 hours before the experiments. The experiments with angelfish were performed in static and interest randomized design consisted of a control and five treatments for almond concentrations of 0, 300, 400, 500, 600 and 700 mg/L and garlic, the concentrations of 0, 100, 200, 300, 400 and 600 mg/L. The experiments with wild grasses were performed in static and interest randomized design consisted of a control and five treatments for almond concentrations of 0, 200, 300, 400, 600 and 800 mg/L and garlic at concentrations 0, 300, 400, 500, 600 and 700 mg/L. The results of the 96h LC_{50} average of aqueous extract of almond was 630.33 mg/L and the garlic was 571.54 mg/L for angelfish. To kill thick, the average LC_{50} 96h almond was 484.28 mg/L and the garlic was 355.78 mg/L. During the tests, the fish showed agitation, increased heart opercular, erratic swimming behavior and slow. Values of lethal concentration of aqueous extracts derived for the angelfish can be classified as practically non-toxic ($LC_{50} > 100$ mg / L) according to the classification of Zucker (1985). Thus, the aqueous extracts of almond and garlic can be used for therapeutic purposes for these two species by being less toxic.

Key words: median lethal concentration, ecotoxicology, toxicity, fish

INTRODUÇÃO

O sucesso na piscicultura ornamental depende do uso de boas práticas de manejo nos tanques. No conjunto dessas práticas destacam-se o controle da qualidade da água, a realização de quarentena na aquisição de novos lotes, fornecimento de alimentação de qualidade e balanceada, garantindo a saúde dos animais e, conseqüentemente a prevenção de doenças (TAVECHIO *et al.*, 2009).

A amendoeira e o alho são plantas utilizadas na cultura popular para curar doenças, como tempero ou ornamental. Na aquicultura, acredita-se que os compostos ativos da amendoeira (taninos) e do alho (alicina) presentes nos extratos aquosos são os responsáveis pelo controle de parasitas de peixes bem como pela melhora no desempenho reprodutivo de algumas espécies ornamentais.

Alguns fitoterápicos efetivos estudados para o uso em piscicultura são extraídos de plantas como amendoeira ou sete-copas (*Terminalia catappa*), alho (*Allium sativum*), cominho-negro (*Nigella sativa*), equinácias (*Echinacea* spp.), manjerona (*Origanum marjorana*) e folhas de neem (*Azadirachta indica*) (CHITMANAT *et al.*, 2005a e b; CRUZ, 2005; JOHN *et al.*, 2007; MESALHY *et al.*, 2007; DIAB *et al.*, 2008).

Estudos para avaliar a toxicidade de extratos aquosos de plantas para peixes ornamentais são importantes, pois indicam as concentrações subletais aos peixes e que podem exercer efeito sobre a fauna parasitária de peixes cultivados. Também são importantes, pois fornecem subsídios para comparações de resultados de contaminações em corpos d'água decorrentes da utilização das substâncias indiscriminadamente.

Este trabalho teve por objetivo determinar a concentração letal média CL₅₀ 96 horas dos extratos aquosos de amendoeira e alho para espécies *Pterophyllum scalare* (Schultze, 1823), o acará-bandeira e *Hyphessobrycon eques* (Steindachner, 1882), o mato-grosso, visando o uso, dentro destes limites, de diferentes concentrações para o controle de parasitas desses peixes.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram realizados ensaios para testar a toxicidade dos extratos aquosos de folhas de *T. catappa*, a amendoeira, e de bulbilho de *A. sativum*, o alho, sobre os peixes acará-bandeira, *P. scalare*, e mato-grosso, *H. eques*.

Os espécimes foram adquiridos em criador de peixes ornamentais no Recôncavo da Bahia e transportados em caixas de isopor para o Laboratório de Parasitologia de

Organismos Aquáticos no Núcleo de Estudos em Pesca e Aquicultura (NEPA), sediado no Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas, onde foram realizados os experimentos.

Foi utilizada bateria experimental contendo 18 aquários de vidro com capacidade máxima de 20 L cada, equipados com sistema de injeção de ar e controle de fotoperíodo ajustado para 12 horas de luz e 12 horas de escuro. Os peixes foram aclimatados em uma bateria com 10 tanques de polietileno de 100 litros equipados com injeção forçada de ar.

Para a obtenção do extrato vegetal de amendoeira foram coletadas suas folhas no campus da UFRB. Em seguida, as folhas foram limpas, higienizadas com solução de hipoclorito de sódio 5%, lavadas em água corrente tratada e secas em estufa de circulação forçada de ar a 60°C durante 48 horas.

O extrato aquoso da amendoeira foi obtido submergindo-se saches feitos em tecido filó, contendo diferentes pesos de folha seca em 20 litros de água filtrada, de acordo com a concentração a ser obtida (200, 300, 400, 500, 600, 700 e 800 mg/L), durante 72 horas (CHANSUE e TANGTRONGPIROS, 2005). Os extratos foram filtrados em papel filtro antes da utilização nos experimentos.

O alho foi adquirido em supermercado no município de Cruz das Almas - BA. Para a produção do extrato aquoso foi separado em "dentes", descascado e higienizado com solução de hipoclorito de sódio 5% e lavado em água corrente tratada. Em seguida, o alho foi amassado, acondicionado em tecido filó e mergulhado por um período de 24 h (CHITMANAT *et al.*, 2005a) em 20 L de água filtrada para se obter as concentrações de 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700 mg/L. Após a obtenção do extrato, este também foi filtrado em papel filtro para utilização nos experimentos.

Os peixes adultos foram aclimatados em caixa de polietileno de 100 L, respectivamente, com sistema de aeração constante por dez dias, segundo recomendações do IBAMA (1987). Nesse período, os animais foram alimentados *ad libitum* com ração comercial duas vezes ao dia. Vinte e quatro horas antes dos experimentos, a alimentação foi interrompida e durante os ensaios os peixes não receberam alimento.

Foram determinados nos testes preliminares, os intervalos de concentração dos extratos aquosos de amendoeira e alho que causaram entre zero e 100% de mortalidade para serem utilizados nos testes definitivos, segundo metodologias recomendadas pelo IBAMA (1987), com modificações.

Os testes foram realizados em sistema estático, sem substituição e sifonagem de água durante o período de exposição de 96 horas. Durante este período os espécimes foram mantidos sem alimentação e a água utilizada para os testes foi do abastecimento público.

As variáveis físicas e químicas da água (temperatura, pH, amônia e oxigênio dissolvido) foram coletadas de cada recipiente com adição dos extratos e sem adição dos extratos das plantas.

Os peixes foram expostos a seis concentrações crescentes, com três repetições e cinco peixes por repetição em um delineamento inteiramente casualizado, sendo avaliadas a mortalidade e as reações adversas decorrentes da exposição aos extratos de amendoeira e alho.

Os valores de CL_{50} 96h foram calculados através do programa *Trimmed Spearman-Kärber* (HAMILTON *et al.*, 1977). As análises estatísticas foram realizadas com auxílio do pacote SISVAR (FERREIRA, 2000).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As variáveis físicas e químicas da água dos aquários variaram durante os experimentos mas permanecendo dentro do limites máximos tolerados pelas espécies (FROESE & PAULY, 2010). As médias e respectivos desvios padrão analisados estão expressos nas Tabelas 1 a 4.

As quedas nas concentrações na qualidade da água principalmente no oxigênio dissolvido e no pH ao se confeccionar os extratos aquosos de amendoeira e alho, são provenientes da decomposição das frações de matéria orgânica dissolvida decorrente da extração aquosa e pelo aumento de compostos que diminuem o pH. No caso da amendoeira esses compostos são, principalmente, os taninos (CHANSUE e ASSAWAWONGKASEM, 2008) e, para o alho os produtos da alicina e aliina (MARCHIORI, 2009).

BARATELLI (2006) descreve a existência de ácidos vanílico, siríngico, ferúlico, p-cumárico, esteárico e palmítico, da 2-pentadecanona e do beta-sitosterol-3-O-beta-D-glicosídeo, taninos quando extraídos por água que contribuem para variação dos valores de pH.

Tabela 1: Valores das variáveis físicas e químicas analisadas antes e depois da adição de *Terminallia catappa* para a realização dos experimentos com acará-bandeira.

Variáveis	Concentrações (mg/L)											
	Controle		300		400		500		600		700	
	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois
pH	8,0±0,05	6,9±0,13	8	5,95±0	8,0	5,53±0,02	8,0	5,15	7,9	4,91±0,05	8,0±0,05	5,02±0,14
OD (mg/L)	7,65±0,05	6,6±0,13	7,8±0	5,7±0,02	7,8	5,72±0,02	7,8	5,25	7,8	4,82±0,24	7,6±0,15	4,82±0,24
T°C	29,8±0,4	28,7±0,41	28,3±0	27,1±0,15	28,3	27,1±0,15	28,3	27±0,05	28	27±0,1	28	27,1±0,15
NH ₃ (mg/L)	0	0	0	0	0	0	0	0,08±0,01	0	0,16±0,02	0	0,5±0,25

Tabela 2: Valores das variáveis físicas e químicas analisadas antes e depois da adição de *Allium sativum* para a realização dos experimentos com acará-bandeira.

Variáveis	Concentrações (mg/L)											
	Controle		100		200		300		400		600	
	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois
pH	7,96±0,02	8,01±0,02	8,05±0,05	7,74±0,03	7,9±0,1	7,5±0,02	7,76±0,25	7,1±0,01	7,83±0,25	7,4±0,03	7,86±0,15	7,07±0,06
OD (mg/L)	7,75	6,51±0,01	8±0,1	7,41±0,01	7,74±0,21	6,9±0,01	7,95±0,07	6,84	7,95±0,06	7,04	7,97±0,06	4,18±0,62
T°C	27,9±0,1	27,9±0,1	28,5	27,3	28,5	27,5	28,5	27,8	28,5	27,4	28,5	27,9±0,05
NH ₃ (mg/L)	0	0	0	0	0	0,25	0	0,5	0	0,75	0	2

Tabela 3 - Valores das variáveis físicas e químicas analisadas antes e depois da adição de *Terminallia catappa* para a realização dos experimentos com mato-grosso.

Variáveis	Concentrações (mg/L)											
	Controle		200		300		400		600		800	
	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois
pH	6,9±0,05	7±0,02	7,08±0,02	6,63±0,15	7,1±0,1	6,45±0,08	7,03±0,05	6,1±0,1	7,03±0,05	4,98±0,1	7,13±0,08	4,96±0,12
OD (mg/L)	7±0,26	6,96±0,11	6,93±0,56	6,86±0,05	7,28±0,01	6,85±0,01	7,25±0,01	6,16±0,41	7,66±0,23	4,87±0,19	7,78±0,09	4,6±0,17
T°C	28,1±0,1	28,7±0,05	28,4±0,05	28,5±0,49	28,3±0,05	28,8±0,05	28,4±0,05	28,8±0,07	28,2±0,05	27,1±0,3	28,6±0,03	28,3±0,3
NH ₃ (mg/L)	0	0	0	0	0	0	0	0,08±0,01	0	0,16±0,02	0	0,66±0,03

Tabela 4 - Valores das variáveis físicas e químicas analisadas antes e depois da adição de *Allium sativum* para a realização dos experimentos com mato-grosso.

Variáveis	Concentrações (mg/L)											
	Controle		300		400		500		600		700	
	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois
pH	6,79±0,03	7	6,93±0,05	5,95	6,84±0,01	5,55	6,74±0,13	5,15±0,01	6,83±0,15	5,1±0,17	6,83±0,2	5,1±0,26
OD (mg/L)	6,96±0,2	6,8±0,1	6,73±0,2	4,29±0,39	6,9±0,1	4,1±0,56	6,73±0,2	3,93±0,37	6,13±0,15	4±0,1	6,03±0,58	3,95±0,13
T°C	27,9±0,01	27,5	27,8±0,28	28±0,25	27,6±0,28	27,6±0,15	27,9±0,36	27,5±0,37	28,5±0,15	27,4±0,15	28,5±0,15	27,9±0,05
NH ₃ (mg/L)	0	0	0	0	0	0,08±0,14	0	0,08±0,14	0	0,58±0,14	0	0,75±0,25

As variações encontradas na qualidade da água contribuem com apenas 12,5% e 12,2% para amendoeira e alho, respectivamente para explicar a mortalidade de acará-bandeira, e 0,06% e 0,05% para amendoeira e alho, respectivamente para explicar a mortalidade de mato-grosso.

Os limites de tolerância para oxigênio dissolvido e pH para espécies estudadas estão dentro do observado neste experimento (FROESE & PAULY, 2010). Os valores de amônia observado nos tratamentos com maior concentração de amendoeira e alho são considerados tóxicos para espécies (600 e 700 mg/L). OLIVEIRA *et al.*, (2008) encontraram um limite de tolerância para o cardinal tetra de aproximadamente 24,5 mg/L para que ocorra 50% de mortalidade da espécie. Desta forma pode-se inferir que as características físicas e químicas da água dos aquários não interferiram nos resultados de toxicidade.

Os valores médios de CL₅₀ 96h para amendoeira foi de 484,28 mg/L e para o alho, de 355,78 mg/L para o mato-grosso. Para o acará-bandeira, o resultado da CL₅₀ 96 h para amendoeira foi 630,33 mg/L e para alho foi 571,74 mg/L. Os valores da LC₅₀, dos limites inferiores e superiores, equação da mortalidade e R² estão apresentados na Tabela 5.

Tabela 5 - Valores da CL_{50(I)} 96h, limites superior e inferior, equação e R², dos testes de toxicidade aguda realizados com Matogrosso e Acará-bandeira.

Extratos	Espécies	CL _{50(I)96h} (mg/L)	Limites		Equação Linear (mortalidade)	R ²
			Inferior	Superior		
	Acará-bandeira					
Amendoeira		630,33	553,76	717,50	y = 0,112x - 20,983	0,875
Alho		571,54	544,44	599,98	y = 0,2457x - 89,587	0,878
	Mato-grosso					
Amendoeira		484,28	451,59	519,46	y = 0,28x + 84,01	0,943
Alho		355,78	307,76	412,58	y = 0,148x + 4,9257	0,954

Os resultados de toxicidade observados por CHANSUE (2008) para o lebiste, utilizando amendoeira, foram inferiores aos encontrados no presente estudo, em torno de 70 mg/L para CL₅₀ 96horas. Já CHITMANAT *et al.*, (2005b) utilizando extrato aquosos de amendoeira e alho para alevinos de tilápia encontraram valores de toxicidade superiores aos encontrados neste estudo para amendoeira foi de 44.665,94 mg/L e para alho, 2.259,44 mg/L em testes agudos de 2 e 16 horas respectivamente.

As diferenças observadas entre os experimentos se devem a fatores relacionados à resistência das espécies e sua adaptabilidade a condições de estresse imposta pelas condições experimentais. Os danos causados por extratos aquosos e poluentes aos animais aquáticos são complexos e resultantes da interação entre a qualidade da água do ambiente e as condições imunológicas dos animais, levando a respostas distintas a um fator comum

Estudos de toxicidade aguda realizados com produtos químicos para outras espécies de peixes e camarões confirmam, comparativamente, a mais baixa toxicidade dos extratos vegetais para espécies de peixes. FRACÁCIO *et al.*, (2008) avaliando a toxicidade aguda do endossulfam sulfato para *Danio rerio* obteve valores de CL_{50-96h} de 7,29 $\mu\text{g/L}$. BARBIERI (2008) encontrou na CL_{50-96h} para camarão rosa utilizando os produtos químicos DSS e LAS-C12, os resultados de 8,66 e 4,25 $\mu\text{g/L}$ respectivamente. NESKOVIC *et al.*, (1996) testando o Glyphosate® para *Cyprinus carpio* encontrou uma CL_{50-96h} de 620 mg/L e para o herbicida Quinclorac, MIRON *et al.* (2005) encontrou o valor de CL_{50-96h} de 395 mg/L.

A resposta dos peixes às concentrações de alho e amendoeira nos diferentes tratamentos seguiram tendências lineares, como pode ser observado na Figuras 1.

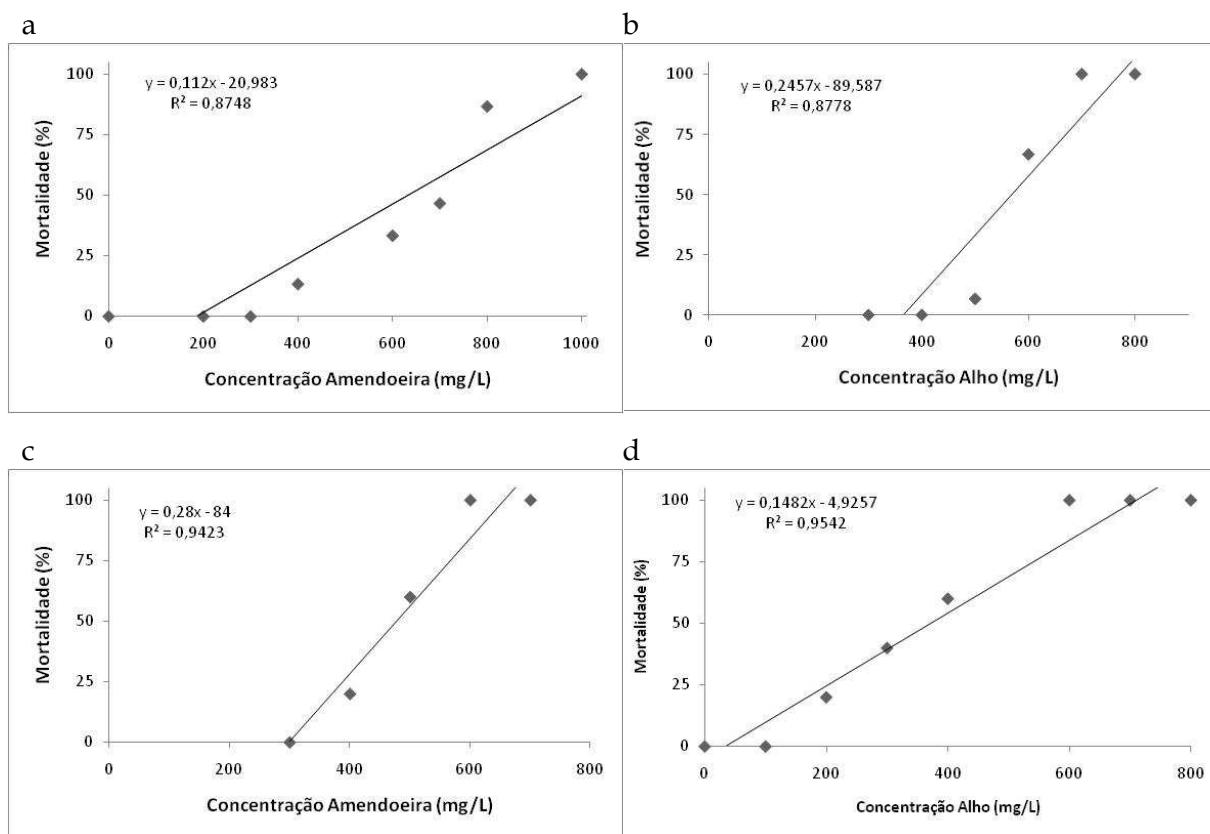


Figura 1 - Mortalidade (%) e concentração letal média 50% para o acará-bandeira (“a” e “b”) e mato-grosso (“c” e “d”) em função da concentração (mg/L) de amendoeira e alho.

Os valores de concentração letal dos extratos aquosos determinados para o acará-bandeira e para o mato-grosso podem ser classificados como praticamente não tóxico ($CL_{50-96} > 100$ mg/L) de acordo com a classificação de Zucker (1985) (Tabela 6).

Tabela 6 - Classes de toxicidade aguda para organismos aquáticos.

Classe de toxicidade	CL_{50-96h} (mg/L)
Extremamente tóxico	< 0,1
Altamente tóxico	0,1 a 1,0
Moderadamente tóxico	> 1,0 a < 10
Ligeiramente tóxico	> 10 a < 100
Praticamente não-tóxico	> 100

Os extratos aquosos de amendoeira e de alho podem ser utilizados para fins terapêuticos no cultivo de acará-bandeira e mato-grosso, por serem praticamente não-tóxicos à espécie alvo, desde que respeitadas às concentrações sub-letais.

A importância da adoção de extratos aquosos de baixa toxicidade para espécies de peixes alvo pode minimizar o impacto ambiental provocado por produtos químicos, fármacos e agrotóxicos utilizados indiscriminadamente e sem orientação de profissionais habilitados.

BIBLIOGRAFIA

- BARATELLI, T. G. *Estudo das propriedades alelopáticas vegetais: investigação de substâncias aleloquímicas em Terminalia catappa Linn (Combretaceae)*. (Dissertação de Mestrado em Química de Produtos Naturais. Universidade Federal do Rio de Janeiro), 2006.
- BARBIERI, E. 2008 Efeito dos Surfactantes DSS e LAS-C12 sobre o Camarão-rosa (*Farfantepenaeus paulensi*, Pérez-Farfante, 1967). *J. Braz. Soc. Ecotoxicol.*, v. 3, n. 1, 35-40.
- CHANSUE, N.; ASSAWAWONGKASEM, N. The *in vitro* antibacterial activity and ornamental fish toxicity of the water extract of indian almond leaves (*Terminalia catappa* Linn.). *KKU Veterinary Journal*, 18(1): 36-45, 2008.

- CHANSUE, N. and TANGTRONGPIROS, J. 2005 Effect of dried Indian almond leaf (*Terminalia catappa*) on monogenean parasite of gold fish (*Carassius auratus*). *Thai Journal of Veterinary Medicine*, Bangkok, 35(1): 55-56.
- CHITMANAT, C.; TONGDONMUAN, K.; KHANOM, P.; PACHONTIS, P.; NUNSONG, W. 2005a Antiparasitic, antibacterial, and antifungal activities derived from a *Terminalia catappa* Linn solution against some tilapia (*Oreochromis niloticus*) pathogens. *Acta Horticulturae*, Leuven, 678: 179-182.
- CHITMANAT, C.; TONGDONMUAN, K.; NUNSONG, W. 2005b The use of crude extracts from traditional medicinal plants to eliminate *Trichodina* spp. in tilapia (*Oreochromis niloticus*) fingerlings. *Songklanakarin J. Sci. Technol.*, Songkhla, 27(1): 359-364.
- CRUZ, C. 2005 *Aspectos toxicológicos de parathion metílico e de extrato aquoso de folhas secas de nim (Azadirachta indica) para o pacu (Piaractus mesopotamicus) e eficácia no controle de monogenea Dactylogyridae*. Jaboticabal. 96 p. (Tese de Doutorado, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP).
- DIAB, A.S.; ALY, S.M.; JOHN, G.; ABDE-HADI, Y.; MOHAMMED, M.F. 2008 Effect of garlic, black seed and Biogen as immunostimulants on the growth and survival of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (Teleostei: Cichlidae), and their response to artificial infection with *Pseudomonas fluorescens*. *African Journal of Aquatic Science*, Pietermaritzburg, 33(1): 63-68.
- FERREIRA, D. F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. In: *Reunião Anual da Região Brasileira da Sociedade internacional de Biometria, Programa e resumos...* São Carlos: UFSCar, p. 255-258, 2000.
- FRACÁCIO, R., CAMPAGNA, A. F., RODRIGUES, B. K., VERANI, N. F., ESPÍNDOLA, E. L. G. 2008 Avaliação da Toxicidade do Endossulfan Sulfato sobre Juvenis de *Danio Rerio* (Cypriniformes, Cyprinidae). *J. Braz. Soc. Ecotoxicol.*, v. 3, n. 1, 15-21.
- FROESE, R.; PAULY, D. (eds.). *Fishbase*: World Wide Web electronic publication. Disponível em: www.fishbase.org, acesso em dezembro de 2010.
- HAMILTON, M. A.; RUSSO, R. C.; THURSTON, V. Trimmed Spearman-Kärber method for estimating median lethal concentrations in toxicity bioassays. *Environ. Sci. Technol.*, v. 7, p. 714-719, 1977

- IBAMA. Avaliação da toxicidade aguda para peixes. In: *Manual de testes para avaliação da ecotoxicidade de agentes químicos*. Brasília, 1987. p.20-32.
- JOHN, G.; MESALHY, S.; REZK, M.; EL-NAGGAR, G.; FATHI, M. 2007 Effect of some immunostimulants as feed additives on the survival and growth performance of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* and their response to artificial infection. *Egypt J. Aquat. Biol. & Fish.*, Cairo, 11(3): 1299-1308.
- MARCHIORI, V. F. 2009 Propriedades funcionais do alho (*Allium sativum* L.). Disponível em http://www.esalq.usp.br/siesalq/pm/alho_revisado.pdf.
- MESALHY, S.; JOHN, G.; EL-NAGGAR, G.; FATHI, M. 2007 Effect of Echinacea on body gain, survival and some hematological and immunological parameters of *Oreochromis niloticus* and their response to challenge infection. *Egypt. J. Aquat. Biol. & Fish.*, Cairo, 11(3): 435-445.
- MIRON, S., CRESTANI, M., SHETTINGER, M. R., MORSH, V. M., BALDISSEROTTO, B., TIERNO, M. A., MORAES, G., VIEIRA, A. L. P. 2005 Effects of herbicides clomazone, quinclorac, and metsulfuron methyl on acetylcholinesterase activity in the silver catfish (*Rhamdia quelen*) (Heptapteridae). *Ecotox. Environ. Saf.*, 61: 398-403.
- NESKOVIC, N. K., POLEKSIC, V., ELEZOVIC, I., KARAN, V. & BUDIMIR, M., 1996. Biochemical and histopathological effects of glyphosate on carp, *Cyprinus carpio*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 56: 295-302.
- OLIVEIRA, S. R., SOUZA, R. T. Y., NUNES, E. S. S., CARVALHO, C. S. M., MENEZES, G. C., MARCON, J. L., ONO, E. A., AFFONSO, E. G. 2008 Tolerance to temperature, pH, ammonia and nitrite in cardinal tetra, *Paracheirodon axelrodi*, an amazonian ornamental fish. *Acta Amazonica*, Manaus, v. 38(4): 773 - 780.
- TAVECHIO, W. L. G., GUIDELLI, G., PORTZ, L. 2009 Alternativas para a prevenção e o controle de patógenos em piscicultura. *B. Inst. Pesca*, São Paulo, 35(2): 335 - 341.
- ZUCKER, E. *Hazard evaluation division: standart evaluation procedure acute toxicity test for freshwater fish*. U.S.EPA Publication 540/9-85-006, 1985.

CAPÍTULO 2

CONTROLE DE PARASITAS DE PEIXES ORNAMENTAIS UTILIZANDO EXTRATOS
AQUOSOS DE AMENDOEIRA (*Terminalia catappa* L.) E DE ALHO (*Allium sativum* L.)¹

¹ Artigo submetido ao Comitê Editorial do Periódico Científico *Boletim do Instituto de Pesca*

CONTROLE DE PARASITAS DE PEIXES ORNAMENTAIS UTILIZANDO EXTRATOS
AQUOSOS DE AMENDOEIRA (*Terminallia catappa* L.) E DE ALHO (*Allium sativum* L)

CONTROL OF PARASITES OF ORNAMENTAL FISH USING AQUEOUS EXTRACTS OF
ALMOND (*Terminallia catappa* L.) AND GARLIC (*Allium sativum* L)

Washington Luiz Gomes TAVECHIO, Gislaïne GUIDELLI e Leandro PORTZ

RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo determinar a eficiência dos extratos aquosos de amendoeira (*Terminallia catappa*) e de alho (*Allium sativum*) no controle de parasitas das espécies de peixes ornamentais *Pterophyllum scalare* (Schultze, 1823), o acará-bandeira, e *Hyphessobrycon eques* (Steindachner, 1882), o mato-grosso. Os peixes foram adquiridos de criadores locais e aclimatados de acordo com normativa do IBAMA. Os peixes foram mantidos em aquários em alta densidade e com baixa frequência de manejo para indução das parasitoses. Foi registrada a ocorrência do ectocomensal *Epistylis* sp. e do ectoparasita *Trichodina* sp. em *H. eques*. *Pterophyllum scalare*, apesar de submetida às mesmas condições de densidade e de manejo, não desenvolveu parasitas ou ectocomensais. A alimentação dos peixes foi interrompida 24 horas antes dos testes de desafio contra os parasitas. Os extratos das plantas foram obtidos mergulhando-se a folha seca da amendoeira e o bulbilho do alho amassado em água, por 72 e 24 horas respectivamente, sendo filtrados posteriormente em papel filtro. Os experimentos com acará-bandeira e mato-grosso foram realizados em sistema estático e delineamento inteiramente casualizado consistido de um controle e dois tratamentos para amendoeira nas concentrações 0, 300 e 400 mg/L e para alho nas concentrações de 0, 200 e 300 mg/L. Os resultados indicaram um controle efetivo de *Epistylis* sp. e *Trichodina* sp. em *H. eques*. Desta forma, os extratos aquosos de amendoeira e de alho podem ser utilizados para fins terapêuticos na piscicultura destas espécies, nas concentrações testadas, no controle de *Epistylis* sp. e *Trichodina* sp.

Palavras-chave: amendoeira, alho, *Epistylis*, *Trichodina*, peixes, tratamento

ABSTRACT

This study aimed to determine the efficiency of aqueous extracts of almond (*Terminallia catappa*) and garlic (*Allium sativum*) in the control of parasites of ornamental fish *Pterophyllum scalare* (Schultze, 1823), the o angelfish, and *Hyphessobrycon eques* (Steindachner, 1882) the jewel tetra. The fish were purchased from local breeders and acclimated according to rules of IBAMA. The fish were kept in tanks at high density and low frequency management for the induction of parasitosis. The occurrence of the ectocomensal *Epistylis* sp. and the ectoparasite *Trichodina* sp. was registered in *H. eques*. *Pterophyllum scalare*, although submitted to the same conditions of density and management, it did not develop parasites or ectocomensal. Feeding was stopped 24 hours before testing. The plant extracts were obtained by immersion of the dried leaves of the almond and cloves of garlic in water for 72 and 24 hours respectively, and subsequently filtered on filter paper. The experiments with angelfish and jewel tetra were performed in static system and interest randomized design consisting of a control and two treatments for almond concentrations of 0, 300 and 400 mg/L and garlic, the concentrations of 0, 200 and 300 mg/L. The results indicated an effective control of *Epistylis* sp. and *Trichodina* sp. in *H. eques*. Thus, the aqueous extracts of almond and garlic can be used for therapeutic purposes in culture of these fish species, in the tested concentrations, in the control of *Epistylis* sp. and *Trichodina* sp..

Keywords: almond, garlic, *Epistylis*, *Trichodina*, fish, tratament

INTRODUÇÃO

Muitos países vem incentivando a piscicultura e a comercialização de peixes ornamentais. Esse fato está ligado à grande perspectiva de mercado, tanto interno como externo, e à possibilidade de aumento da renda dos produtores rurais engajados na atividade. Assim, se faz necessária a intensificação dos sistemas de produção, a criação e o melhoramento de pacotes tecnológicos para a produção de espécies ornamentais (RIBEIRO *et al.*, 2007; ZUANON *et al.*, 2006).

Em 2007, o mercado dos peixes ornamentais movimentou três bilhões de dólares, destacando-se Cingapura e Estados Unidos como os maiores exportadores (FAO, 2007). Além da grande movimentação financeira, a indústria de peixes ornamentais se destaca por atuar como importante agente no desenvolvimento sustentável de ecossistemas

aquáticos, uma vez que reduz ou até mesmo torna desnecessária a pressão sobre estoques naturais (RIBEIRO *et al.*, 2007).

Decorrente do desenvolvimento descontrolado, falta de manejo nos tanques e da falta de utilização de quarentena no recebimento de lotes novos, as pisciculturas ornamentais enfrentam grandes dificuldades decorrente das infestações parasitárias, bacterianas e de outras etiologias, que acometem os cultivos.

Para solucionar os problemas com doenças, os piscicultores utilizam diversos quimioterápicos na prevenção e combate aos organismos que afetam os peixes como o sulfato de cobre, o permanganato de potássio, o verde malaquita, a formalina, os organofosforados, o diflubenzuron, o tetramizol, o levamizol, o fenbendazol, dentre outros. (KUBITZA, 1999; PAVANELLI *et al.*, 2008; UNTERGASSER, 1989). No entanto, a literatura sobre quimioterapia para peixes, em especial para peixes ornamentais tropicais é incipiente no Brasil.

Acredita-se que a fitoterapia também seja uma alternativa importante no controle sanitário em piscicultura ornamental e na melhoria do desenvolvimento das espécies de peixes ornamentais (TAVECHIO *et al.*, 2009).

Dentre as diversas plantas com poder medicinal duas se destacam: *Allium sativum*, o alho, e *Terminalia catappa*, a amendoeira.

O alho é utilizado desde a antiguidade na cura e prevenção de diversas doenças. O seu potencial terapêutico tem sido evidenciado nos últimos anos e diferentes propriedades medicinais já foram comprovadas como antimicrobiano, antitrombótico, hipoglicêmico, antitumoral, entre outros. Atribui-se os efeitos terapêuticos do alho à presença da alicina, composto químico derivado do enxofre responsável pelo cheiro característico desse vegetal (SANTOS *et al.*, 2009).

A amendoeira é originária da Índia e desde o século XVII já era bastante comum nas praias brasileiras. Extratos de diferentes órgãos de *T. catappa* (folhas, frutos e cascas) apresentam atividade terapêutica como antimicrobiana, antifúngica, antidiabética (NAGAPPA *et al.*, 2003), antiinflamatória (FAN *et al.*, 2004), hepatoprotetora (CHEN e LI, 2006) e antioxidante (KINOSHITA *et al.*, 2007).

Este trabalho teve por objetivo determinar a eficácia dos extratos aquosos de amendoeira e de alho no controle de parasitas a duas espécies de peixes ornamentais brasileiros, o acará-bandeira e o mato-grosso, em condições experimentais.

MATERIAL E MÉTODOS

Os peixes foram adquiridos de criador de peixes ornamentais no Recôncavo da Bahia e transportados em caixas de isopor até o Laboratório de Parasitologia de Organismos Aquáticos no Núcleo de Estudos em Pesca e Aquicultura (NEPA), sediado no Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas onde foram realizados os experimentos. Foram utilizados espécimes de acará-bandeira pesando em média $0,95 \pm 0,27$ gramas e comprimento total de $3,8 \pm 0,3$ cm e de mato-grosso pesando em média $0,77 \pm 0,5$ gramas e comprimento total de $3,7 \pm 0,2$ cm.

Para a obtenção do extrato vegetal de amendoeira foram coletadas suas folhas no campus da UFRB. Em seguida, as folhas foram limpas, higienizadas com solução de hipoclorito de sódio 5%, lavadas em água corrente tratada e seca em estufa de circulação forçada de ar a 60°C , durante 48 horas.

O extrato aquoso da amendoeira foi obtido submergindo-se em 20 L de água filtrada, sachês feitos em tecido filó contendo diferentes pesos das folhas secas, de acordo com a concentração desejada (300 e 400 mg/l), durante 72 horas. Os extratos foram filtrados em papel filtro e utilizados nos experimentos.

O alho foi adquirido em supermercado no município de Cruz das Almas - BA. Para a produção do extrato aquoso foi separado em "dentes", descascado e higienizado com solução de hipoclorito de sódio a 5% e lavado em água. Em seguida, o alho foi amassado, acondicionado em tecido filó e mergulhado por um período de 24 horas em 20 L de água filtrada para se obter as concentrações de 200 e 300 mg/L. Após a obtenção do extrato, este foi filtrado em papel filtro para utilização nos experimentos. A partir dos ensaios para testar a toxicidade dos extratos de folhas de *T. catappa* e de bulbilho de *A. sativum* sobre o peixe acará-bandeira e mato-grosso obtivemos as concentrações subletais utilizadas neste trabalho.

Os peixes foram mantidos por 14 dias em aquários em altas densidades e com manejo inadequado para a indução de enfermidades. Posteriormente, uma amostra de 5 peixes foi retirada para avaliar as ectoparasitoses emergentes.

Durante a fase de aclimação e indução os peixes receberam ração comercial com 38% de proteína, oferecida até a saciedade. No ambiente experimental, os peixes foram aleatoriamente distribuídos seguindo um delineamento inteiramente casualizado de cinco tratamentos sendo um controle, com três réplicas cada, contendo 15 peixes por réplica, perfazendo um total de 45 peixes por tratamento. Os testes foram realizados em

aquários de 20 litros, sem fluxo de água e com fornecimento mínimo de oxigênio constante por meio de aeradores.

Os parâmetros físicos e químicos da água (temperatura, pH, oxigênio dissolvido e amônia) foram coletados de cada recipiente em T 0 e T 24 horas dos experimentos utilizando oxímetro digital, phmetro e amônia Alfakit.

A cada 24 h (T 24, T 48 e T 72) retirou-se 15 peixes de cada tratamento, sendo cinco peixes de cada réplica, para proceder o exame parasitológico. Para isso, foram examinados raspados da superfície corporal de cada animal ao microscópio óptico para a contagem dos organismos associados, de acordo com recomendações de EIRAS *et al.* (2000). Para análise da eficácia dos extratos aquosos foram confrontadas as concentrações e o número médio de parasitas por campo de observação de cada tratamento e de cada repetição e comparadas com o controle durante 72 horas. A mortalidade foi avaliada a cada 24 horas sendo que os peixes mortos eram retirados dos aquários.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após análises dos peixes mantidos inicialmente em aquários em altas densidades e ausência de manejo por 14 dias para a indução de doenças identificou-se dois parasitas apenas à *Hyphessobrycon eques*: o ectocomensal *Epistylis* sp. e o ectoparasita *Trichodina* sp., prevalentes em 100% dos peixes da espécie analisadas ao início dos experimentos e com densidade média de $5,06 \pm 1,16$ colônias de *Epistylus* sp. por peixe e $3,13 \pm 1,24$ indivíduos de *Trichodina* sp..

Para *Pterophyllum scalare* não foram detectados ectoparasitas ou ectocomensais ao longo do processo de estresse pela alta densidade e ausência de manejo, fato este que impossibilitou os testes com a espécie. Os peixes não foram colonizados por organismos parasitas ou ectocomensais, mesmo após uma tentativa de infecção experimental colocando-se espécimes de *Trichodina* sp. e *Epistylis* sp. nos ambientes experimentais.

Não houve mortalidade durante os experimentos com os extratos de amendoeira e alho, pois foram utilizadas as concentrações subletais, determinadas de acordo com o Capítulo 1 deste trabalho.

Durante os ensaios foi observada agitação, aumento dos batimentos operculares, natação errática e comportamento lento dos peixes nas primeiras 24 horas decorrentes da exposição aos extratos aquosos de amendoeira e alho. Após este tempo, os peixes voltaram a apresentar um comportamento normal da espécie em confinamento.

As variáveis físicas e químicas da água dos aquários com suas médias e respectivos desvios padrão analisados estão expressos na Tabela 1.

Ao contrário do que ocorre com produtos químicos e fármacos sintéticos que, geralmente, causam aumento da resistência dos parasitas e tem um elevado tempo de permanência no ambiente, acredita-se que os extratos vegetais possam causar um desenvolvimento lento de resistência, ser direcionado a espécies-alvo, ser facilmente biodegradáveis, diminuir amplamente a emissão de resíduos e, conseqüentemente, ser inócuos ao ambiente (CHAGAS, 2004). É possível também que tenham um tempo menor de ação, observando-se os resultados obtidos neste trabalho e aqueles obtidos da literatura.

Após apenas 24 horas de exposição aos extratos aquosos de amendoeira e de alho observou-se neste trabalho, o desaparecimento de *Epustylis* sp. e *Trichodina* sp. em 100% dos tratamentos realizados, demonstrando eficiência desses extratos no controle desses organismos quando associados ao mato-grosso (Tabela 2). Por esta razão não foram usadas análises estatísticas.

A ação do extrato aquoso de *T. catappa* também se mostrou bastante rápida ao longo do tempo de exposição em experimentos realizados por outros autores. Nossos resultados, portanto, corroboram aqueles de outros trabalhos utilizando extrato aquoso de folhas de amendoeira no combate a diferentes organismos e que também obtiveram êxito em pouco tempo de exposição ao tratamento.

CHITMANAT *et al.* (2005a), por exemplo, utilizando extrato aquoso das folhas de amendoeira na concentração de 200 ppm eliminou completamente *Trichodina* spp. de juvenis de tilápias do Nilo após 2 dias de tratamento. Além disso, o autor constatou também atividade inibitória sobre a bactéria *Aeromonas hydrophila* utilizando 0,5 mg/mL. A eficiência do extrato também foi evidenciada por CHANSUE e TANGTRONGPIROS (2005) no controle dos monogenéticos ectoparasitas *Gyrodactylus* spp. e *Dactylogyrus* spp. de kinguios, eliminando-se todos os parasitas em 2 semanas de tratamento usando 3,104 g em 1,8 L de água. CLAUDIANO *et al.* (2009) utilizando a concentração de 120 ml/L de extrato aquoso de amendoeira conseguiram a redução da infestação de monogenéticos em 93.8 % e a redução de 94% do protozoário *Piscinoodinium pillulare* de juvenis de tambaqui após 7 dias de tratamento.

Por outro lado, o extrato aquoso de amendoeira não foi eficiente no tratamento de outro protozoário ciliado, causador de importantíssima doença de peixes ornamentais, *Ichthyophthirius multifiliis* (CLAUDIANO *et al.*, 2009). Isto demonstra que o efeito do

extrato e a sua concentração variam de acordo com a espécie de parasita e com a espécie de peixe e que resultados positivos nos cultivos somente podem ser obtidos após a realização de desafios experimentais caso a caso.

A amendoeira, *T. catappa* é muito comum no Brasil, onde foi introduzida por colonos portugueses. Suas folhas, frutos e raízes possuem taninos, entre outros compostos, que são utilizados como medicamento popular por apresentarem atividade antidiabética (NAGAPPA *et al.*, 2003), antiinflamatória (FAN *et al.*, 2004), estimulante do comportamento sexual e reprodutivo (MONVISES *et al.*, 2009), antibiótica e antifúngica (GOUN *et al.*, 2003) e desinfetante (SANTOS, 2002). Para os peixes é bastante utilizada em aquários domésticos, visando melhorar a coloração dos espécimes, aumentar as taxas reprodutivas, entre outros.

Tabela 1 - Valores médios e desvio-padrão das variáveis físicas e químicas analisadas T 0 e T 24 horas nos experimentos com matogrosso (*H. eques*). (T°C = temperatura; pH = potencial hidrogeniônico; OD = oxigênio dissolvido; NH₃ = amônia. As concentrações dos extratos aquosos e das variáveis químicas OD e NH₃ são dadas em mg/L)

Concentrações	T 0				T 24			
	T °C	pH	OD	NH ₃	T °C	pH	OD	NH ₃
Controle	27,8±0,1	6,8±0,05	5,9±0,2	0	27,4 ± 0,2	7,0± 0,1	5,8±0,1	0
Amendoeira 300	27,8±0,2	6,93±0,05	5,76±0,2	0	28±0,2	5,9±0,02	4,62±0,5	0
Amendoeira 400	27,6±0,28	6,84±0,01	5,6±0,2	0	27,6±0,15	5,53±0,02	4,24±0,46	0,08±0,1
Alho 200	28±0,2	7,08±0,02	5,9±0,02	0	27,8 ± 0,2	6,3±0,2	4,36±0,6	0
Alho 300	27,8±0,2	6,93±0,05	5,9±0,2	0	28± 0,25	5,93±0,02	4,63±0,5	0

Tabela 2 - Número médio de parasitas (\pm desvio padrão) ao longo de 72 horas de exposição a diferentes concentrações de amendoeira, *T. catappa*, e alho, *A. sativum*, para o controle de parasitas ao mato-grosso (*H. eques*). (PTE = Número médio de parasitas ou colônias/peixe analisado em cada tratamento); T = Tempo de exposição em horas. As concentrações dos extratos aquosos são dadas em mg/L)

Tratamento	PTE - <i>Epistylis</i> sp.			PTE - <i>Trichodina</i> sp.		
	T 24	T 48	T 72	T 24	T48	T 72
Controle	5,06±1,16	6,26±1,16	6,8±1,78	3,13±1,24	3,86±1,12	3,73±1,79
Amendoeira 300	0	0	0	0	0	0
Amendoeira 400	0	0	0	0	0	0

Alho 200	0	0	0	0	0	0
Alho 300	0	0	0	0	0	0

Outra planta importante que desperta o interesse dos pesquisadores é o alho, por apresentar um amplo espectro de combate aos microorganismos como bactérias, fungos, protozoários e vírus, além de ser de fácil obtenção. Essas propriedades se devem a alicina, também responsável pelo odor característico da planta, e ao trissulfeto de alila (MARCHIORI, 2009).

Nossos resultados também corroboram aqueles de outros pesquisadores, acerca dessa planta, quando utilizada com eficácia mesmo a baixa concentração, próxima de 200 mg/L

MADSEN *et al.* (2000), por exemplo, também conseguiu eliminar *Trichodina* sp. de ovos de enguias com extrato de alho em uma concentração de 200 mg/L. Na Tailândia, CHITMANAT *et al.* (2005b), usando extrato de alho para banhos numa concentração de 800 ppm conseguiu eliminar 100% do mesmo ectoparasita de juvenis de tilápias do Nilo em 2 dias.

Bons resultados também são conseguidos adicionando-se o alho à ração, porém, em um tempo maior de exposição ao composto. Notou-se aumento da resistência à infecção provocada pela bactéria *Pseudomonas fluorescens* em 91,3% utilizando 3% de alho/kg de ração, durante 3 meses (DIAB *et al.*, 2008). Usando 2,0 g/kg de ração por 45 dias, MARTINS *et al.* (2002) reduziu em 95% a infestação por monogenéticos *Anacanthorus penilabiatus* em pacus.

O uso conjugado de alho e cominho negro (Ranunculaceae), planta de origem asiática, reconhecida por aumentar a atividade de células de defesa e células T imunitárias também mostra resultados satisfatórios no controle de parasitoses. Uma concentração de 3% de alho e cominho negro adicionados à ração de tilápias durante 90 dias gerou 95% de resistência à infecção pela bactéria *Pseudomonas* spp. (JOHN *et al.*, 2007). Quando testado somente o efeito inibitório de cominho negro no tratamento de infecção induzida por *P. fluorescens* em tilápias, a resistência ao patógeno ficou em torno de 85,4% (DIAB *et al.*, 2008).

Desta forma, os extratos aquosos de amendoeira e de alho podem ser utilizados para fins terapêuticos na produção de *P. scalare* e *H. eques*, nas concentrações testadas. Estes podem ser uma alternativa de baixo custo financeiro, fácil aquisição e baixo impacto ambiental para o controle de doenças e parasitas de peixes.

Os resultados promissores no controle de parasitas dessas espécies de peixes sugerem a relevância de novos testes com outros parasitas de impacto na piscicultura e com outros peixes ornamentais.

BIBLIOGRAFIA

- CHAGAS, A.C.S. 2004 Controle de parasitas utilizando extratos vegetais. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, Rio de Janeiro, 13 (1): 156-160.
- CHANSUE, N. and TANGTRONGPIROS, J. 2005 Effect of dried Indian almond leaf (*Terminalia catappa*) on monogenean parasite of gold fish (*Carassius auratus*). *Thai Journal of Veterinary Medicine*, Bangkok, 35(1): 55-56.
- CHEN, P. S., LI, J. H. 2006. Chemopreventive effect of punicalagin, a novel tannin component isolated from *Terminalia catappa*, on H-ras-transformed NIH3T3 cells. *Toxicology Letters*, vol. 163, no. 1, pp. 44-53.
- CHITMANAT, C.; TONGDONMUAN, K.; KHANOM, P.; PACHONTIS, P.; NUNSONG, W. 2005a Antiparasitic, antibacterial, and antifungal activities derived from a *Terminalia catappa* Linn solution against some tilapia (*Oreochromis niloticus*) pathogens. *Acta Horticulturae*, Leuven, 678: 179-182.
- CHITMANAT, C.; TONGDONMUAN, K.; NUNSONG, W. 2005b The use of crude extracts from traditional medicinal plants to eliminate *Trichodina* spp. in tilapia (*Oreochromis niloticus*) fingerlings. *Songklanakarin J. Sci. Technol.*, Songkhla, 27(1): 359-364.
- CLAUDIANO, G. S.; DIAS NETO, J.; SAKABE, R.; CRUZ, C.; SALVADOR, R.; PILARSKI, F. 2009 Eficácia do extrato aquoso de *Terminalia catappa* em juvenis de tambaqui parasitados por monogenéticos e protozoários. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, v.10, n.3, p 625-636.
- DIAB, A.S.; ALY, S.M.; JOHN, G.; ABDE-HADI, Y.; MOHAMMED, M.F. 2008 Effect of garlic, black seed and Biogen as immunostimulants on the growth and survival of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (Teleostei: Cichlidae), and their response to artificial infection with *Pseudomonas fluorescens*. *African Journal of Aquatic Science*, Pietermaritzburg, 33(1): 63-68.

- EIRAS, J. C.; TAKEMOTO, R. M.; PAVANELLI, G. C. 2000 *Métodos de estudo e técnicas laboratoriais em parasitologia de peixes*. Editora da Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 1ª ed., 171p.
- FAN, Y.M.; XU, L.Z., GAO, J.; WANG, Y.; TANG, X.H.; ZHAO, X.N.; ZHANG, Z.X. 2004 Phytochemical and antiinflammatory studies on *Terminalia catappa*. *Fitoterapia*, Amsterdam, 75: 253–260.
- GOUN, E.; CUNNINGHAM, G.; CHU, D.; NGUYEN, C.; MILES, D. 2003 Antibacterial and antifungal activity of Indonesian ethnomedical plants. *Fitoterapia*, Amsterdam, 76: 592–596.
- JOHN, G.; MESALHY, S.; REZK, M.; EL-NAGGAR, G.; FATHI, M. 2007 Effect of some immunostimulants as feed additives on the survival and growth performance of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* and their response to artificial infection. *Egypt J. Aquat. Biol. & Fish.*, Cairo, 11(3): 1299-1308.
- KINOSHITA, S., INOUE, Y., NAKAMA, S., ICHIBA, T., ANIYA, Y. 2007. Antioxidant and hepatoprotective actions of medicinal herb, *Terminalia catappa* L. from Okinawa Island and its tannin corilagin. *Phytomedicine*, v. 14, p. 755–762.
- KUBITZA, F. 1999. Principais parasitoses e doenças dos peixes cultivados. 3.ed. Piracicaba: Degaspari, 96p.
- MADSEN, H.C.K.; BUCHMANN, K.; MELLERAGAARD, S. 2000 Treatment of trichodiniasis in eel (*Anguilla Anguilla*) reared in recirculation systems in Denmark: alternatives to formaldehyde. *Aquaculture*, Amsterdam, 186: 221-231.
- MARCHIORI, V. F. Propriedades funcionais do alho (*Allium sativum* L.). Disponível em http://www.esalq.usp.br/siesalq/pm/alho_revisado.pdf, 2009.
- MARTINS, M.L.; MORAES, F.R.; MIYAZAKI, D.M.Y.; BRUM, C.D.; ONAKA, E.M.; FENERICK Jr, J.; BOZZO, F.R. 2002 Alternative treatment for *Anacanthorus penilabiatus* (Monogenea: Dactylogyridae) infection in cultivated pacu, *Piaractus mesopotamicus* (Osteichthyes: Characidae) in Brazil and its haemathological effects. *Parasite*, Paris, 9: 175-180.
- MONVISES, A.; NUANGSAENG, B.; SRIWATTANAROTHAI, N.; PANIJPAN, B. 2009 The Siamese fighting fish: Well-known generally but little-known scientifically. *ScienceAsia*, Thailand, 35: 8–16.

- NAGAPPA, A. N., THAKURDESAI, P. A., VENKAT RAO, N., SINGH, J. 2003 Antidiabetic activity of *Terminalia catappa* Linn fruits. *Journal of Ethnopharmacology*, Ireland, 88: 45-50.
- PAVANELLI, G. C.; EIRAS, J. C.; TAKEMOTO, G. C. 2008 *Doenças de peixes: profilaxia, diagnóstico e tratamento*. 3ª Ed. Maringá: Eduem, 3338 p.
- PELLI, A., PAULA, D. R., ARRUDA, A. A. M., LOPES, J. M., RAMOS, S. M., REZENDE, A. P. S. 2008 Toxicidade aguda e crônica de diflubenzuron para o jaú, *Zungaro zungaro* (Humboldt, 1821) (Pisces, Pimelodidae). *Revista Brasileira de Zootecias*, v. 10(1): 51-54.
- RIBEIRO, F. A. S.; RODRIGUES, L. A.; FERNANDES, J. B. K. 2007 Desempenho de juvenis de acará-bandeira (*Pterophyllum scalare*) com diferentes níveis de proteína bruta na dieta. *Boletim do Instituto de Pesca*, 33(2): 195-203.
- SANTOS, D. B., BARRETO, M. L., COELHO, H. L. L. 2009 Utilização de medicamentos e fatores associados entre crianças residentes em áreas pobres. *Rev Saude Publica* 43: 768-778.
- SANTOS, E. F. 2002 *Atividade antimicrobiana, toxicologica e desinfetante de extrato de Terminalia catappa* L. João Pessoa. 92 p. (Dissertação de Mestrado, Universidade Federal da Paraíba, UFPB).
- TAVECHIO, W. L. G., GUIDELLI, G., PORTZ, L. 2009 Alternativas para a prevenção e o controle de patógenos em piscicultura. *B. Inst. Pesca, São Paulo*, 35(2): 335 - 341.
- ZUANON, J. A. S., SALARO, A. L., BALBINO, E. M., SARAIV, A. A., QUADROS, M., FONTANARI, R. L. 2006 Níveis de proteína bruta em dietas para alevinos de acará-bandeira. *R. Bras. Zootec.*, Viçosa, 35(5): 1893 -1896.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os valores de concentração letal dos extratos aquosos de amendoeira, *T. catappa*, e de alho, *A. sativum*, determinados para o acará-bandeira e matogrosso são classificados como praticamente não tóxicos ($CL_{50} > 100$ mg/L). Assim, os extratos aquosos de amendoeira e de alho podem ser utilizados para fins terapêuticos para as duas espécies de peixes.

Os resultados encontrados no controle efetivo de *Epistylis* sp. e *Trichodina* sp. em *H. eques* demonstram o potencial que os extratos de amendoeira e alho tem para fins terapêuticos na piscicultura destas duas espécies.