

EXTRATO DE ALECRIM (*Rosmarinus officinalis*) E SUA APLICAÇÃO NA DIETA PARA CAMARÕES DE ÁGUA DOCE - ESTUDOS ZOOTECNICOS E DE STATUS ANTIOXIDANTE

Milena Cia Retcheski

Universidade Federal da Fronteira Sul
milenciariar@gmail.com

Pedro Trabulsi Junqueira Franco

Universidade Federal da Fronteira Sul
pedrotfranco22@gmail.com

Artur Felipe de Sousa Dias

Universidade Federal da Fronteira Sul
arturfdsousa@gmail.com

Silvia Romão

Universidade Federal da Fronteira Sul
silvia.romao@uffs.edu.br

Luciano Tormen

Universidade Federal da Fronteira Sul
luciano.tormen@uffs.edu.br

Tainara da Silva Costa

Universidade Federal da Fronteira Sul
tainaracostatsc@gmail.com

Daniel Masato Vital Hide

Universidade Federal da Fronteira Sul
daniel.hide@uffs.edu.br

Luisa Helena Cazarolli

Universidade Federal da Fronteira Sul
luisacazarolli@uffs.edu.br

Eixo XX: Ciências Biológicas

RESUMO

Várias pesquisas vêm sendo desenvolvidas e direcionadas ao uso de aditivos naturais provenientes de extratos de plantas na alimentação de animais aquáticos dentre eles o alecrim. Este trabalho avaliou *in vivo* os efeitos da suplementação com extrato de alecrim sobre os parâmetros zootécnicos e o perfil antioxidante do camarão (*Macrobrachium rosenbergii*). Foi realizada a suplementação da ração de *M. rosenbergii* nas concentrações 0%, 2%, 5% e 15% de extrato de alecrim durante 90 dias. Ao final do período se suplementação foram avaliados o perfil antioxidante (conteúdo de glutathiona reduzida (GSH), atividade das enzimas glutathiona redutase (GR) e glutathiona S-transferase (GST), níveis de peroxidação lipídica (TBARS) e proteína carbonilada) e os parâmetros zootécnicos dos animais (a taxa de sobrevivência; ganho em peso; ganho de comprimento). A suplementação com extrato de alecrim não influenciou os parâmetros zootécnicos nem a sobrevivência dos animais ao final do período experimental. Em relação ao perfil antioxidante, ocorreu redução significativa dos níveis de glutathiona reduzida no grupo 15% de extrato de alecrim. Ainda, ocorreram aumentos significativos da atividade da glutathiona redutase para os grupos 5% e 15% e aumento significativo na atividade da glutathiona S-transferase em todas as concentrações de extrato de alecrim testadas. A suplementação aumentou significativamente os níveis de peroxidação lipídica no grupo 15% enquanto não foram observadas alterações nos níveis de proteína carbonilada em nenhum dos grupos estudados. Os resultados encontrados após a adição de extrato de alecrim na dieta e o tratamento *in vivo* indicam um potencial pró-oxidante do extrato de alecrim considerando as alterações do sistema de defesa antioxidante e de composição corporal observados.

Palavras-chave: Extrato de Plantas; Metabolismo; *Rosmarinus officinalis*

INTRODUÇÃO

Durante o cultivo, a condição metabólica e nutricional dos camarões exerce um fator especialmente importante na resposta de desempenho, uma vez que os requerimentos nutricionais se modificam ao longo das diferentes fases de desenvolvimento do animal (NUNES; SÁ, 2010). Além disso, a manutenção da homeostase corporal é essencial para uma maior resistência às condições de cultivo e maior produtividade.

Neste sentido, a busca por aditivos/suplementos para as rações que influenciem os sistemas de homeostasia corporal, como por exemplo o sistema antioxidante, representa uma opção importante para a melhoria da produção destes animais. O sistema de defesa antioxidante nos organismos vivos atua a fim de evitar a formação de espécies reativas de oxigênio (EROs) e/ou de nitrogênio (ERNs), neutralizar estas espécies reativas e/ou reparar os danos ocasionados por elas (LIMON-PACHECO; GONSEBATT, 2009; HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2015). Quando ocorre um desequilíbrio entre a formação das espécies reativas e a ação do sistema de defesa instala-se a condição de estresse oxidativo, na qual ocorrem danos às proteínas, lipídeos e DNA acarretando alterações no funcionamento das células e consequentemente do organismo (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2015).

A utilização de plantas como suplementos alimentares para o camarão de água doce pode contribuir sobremaneira para melhorar a condição fisiológica e metabólica dos animais durante o cultivo, melhorando a resistência dos animais a condições estressantes e acelerando o desenvolvimento (ANDRADE *et al.*, 2018). O alecrim (*Rosmarinus officinalis*) apresenta grande variedade de compostos sendo predominantes em extratos os compostos fenólicos, di e triterpenos e óleos essenciais (ANDRADE *et al.*, 2018). Dentre as atividades biológicas descritas para o alecrim destaca-se a atividade antioxidante, além de antibacteriana, antitumoral, anti-inflamatória, analgésica, moduladora do sistema endócrino e metabólico, antidiabética e moduladora do sistema nervoso central (ANDRADE *et al.*, 2018). Assim, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a influência do extrato de alecrim nos parâmetros zootécnicos dos animais, bem como no status antioxidante do camarão *M. rosenbergii*.

MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi desenvolvido nos laboratórios da Universidade Federal da Fronteira Sul - UFFS, *campus* Laranjeiras do Sul, PR. Os camarões de água doce *M. rosenbergii* foram provenientes da unidade amostral de carcinicultura de água doce em estufa agrícola da UFFS *campus* Laranjeiras do Sul. Foi utilizado um sistema de recirculação com biofiltros em fluxo contínuo. Para o preparo do extrato de alecrim, as folhas foram secas em estufa e

posteriormente moídas. O pó foi imerso em álcool etílico 96 °GL, em uma proporção 1:10 (p:v). A solução obtida foi colocada em banho-maria à 35 °C durante 24 horas. O extrato resultante foi filtrado com algodão para a retirada do resíduo sólido, e, posteriormente, concentrado em rota-evaporador à 50 °C (LEITE *et al.*, 2021).

Por se tratar de animais não pertencentes ao Filo Chordata (vertebrados) não há a necessidade de submissão do projeto ao CEUA. O procedimento experimental foi realizado utilizando-se quatro tratamentos com três repetições cada, dispostos de forma completamente aleatória. Os animais foram divididos em diferentes grupos, controle e tratados: controle (T0), tratamento 1 (T1 – 2% de extrato de alecrim na ração), tratamento 2 (T2 – 5% de extrato de alecrim na ração) e tratamento 3 (T3 – 15% de extrato de alecrim na ração). A ração foi fornecida em quantidade de 10% em relação a biomassa total, dividida em duas alimentações diárias, uma pela manhã e outra na parte da tarde. O período de suplementação durou 90 dias sendo que neste período foi realizado o acompanhamento diário dos animais e da qualidade da água do sistema. No final do período de suplementação os animais foram coletados, anestesiados em banho de gelo e eutanasiados por aprofundamento do estado anestésico em banho de gelo para posterior remoção do hepatopâncreas para avaliações bioquímicas.

Para a avaliação dos parâmetros zootécnicos foram realizadas biometrias totais, no início e ao final do ensaio, mensurando peso e comprimento total. Com base nos dados coletados, foram calculados a taxa de sobrevivência (TS) [TS = (Número final de camarões vivos - Número inicial de camarões estocados) *100]; ganho em peso (GP) (g) = (Somatória do Peso final – Somatória do Peso Inicial); ganho de comprimento (GC) (cm) = (Somatória do Comprimento final – Somatória do Comprimento Inicial). Já para o perfil antioxidante a atividade da GR foi determinada segundo Carlberg e Mannervik (1985). A atividade da GST foi determinada de acordo com Habig, Pabst, Jacoby, (1974). Os níveis de GSH foram determinados seguindo Beutler, Duron, Kelly (1963). Os níveis de TBARS foram avaliados conforme o método de Federici *et al.*, 2007. O dano oxidativo a proteínas por carbonilação foi determinado segundo por Levine *et al.*, (1994).

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Uma alimentação adequada durante a criação do camarão de água doce proporciona um bom desenvolvimento durante todos os estágios de crescimento. Buscando analisar o efeito da suplementação da ração com extrato de alecrim sobre o crescimento dos animais, foram mensurados alguns parâmetros zootécnicos. Como pode ser observado na Tabela 1, a

suplementação da ração com extrato de alecrim não influenciou os parâmetros zootécnicos nem a sobrevivência dos animais durante o período experimental.

Tabela 1 - Parâmetros zootécnicos de camarão tratados com suplementação da ração em diferentes concentrações de alecrim.

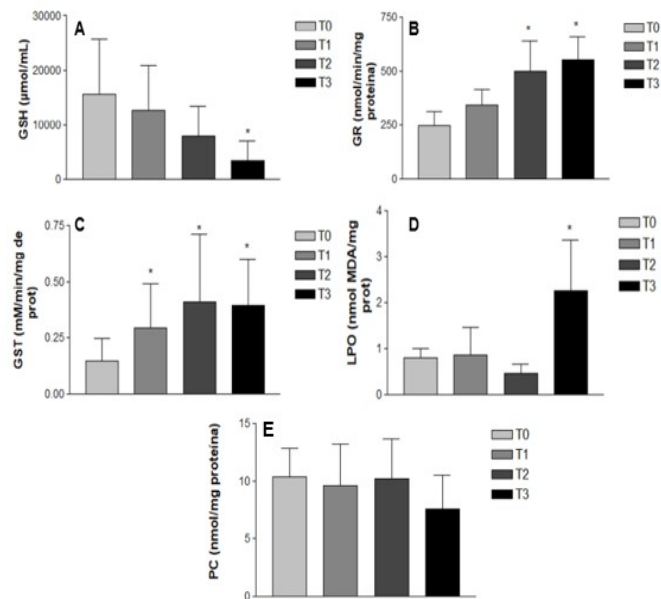
	Controle	2%	5%	15%
TS	64 ± 3,7	68 ± 11,1	65 ± 5,1	62 ± 3,1
GP	0,30 ± 0,02	0,29 ± 0,01	0,27 ± 0,07	0,20 ± 0,06
PI	0,06 ± 0,02	0,06 ± 0,02	0,06 ± 0,02	0,06 ± 0,02
PF	0,36 ± 0,02	0,35 ± 0,01	0,33 ± 0,07	0,26 ± 0,06
CI	0,5 ± 0,01	0,5 ± 0,01	0,5 ± 0,01	0,5 ± 0,01
CF	2,51 ± 0,17	2,37 ± 0,19	2,28 ± 0,09	2,31 ± 0,30
GC	2,01 ± 0,16	1,87 ± 0,19	1,78 ± 0,08	1,82 ± 0,29

Taxa de Sobrevivência em % (TS); Ganho de Peso em g (GP); Peso Inicial em g (PI); Peso Final em g (PF); Comprimento Inicial em cm (CI); Comprimento Final em cm (CF); (GC) Ganho de Comprimento em cm; Os valores são expressos como média ± DP.

Estudos indicam que há uma grande variação em termos de crescimento quando adicionado alecrim às rações de animais aquáticos, em especial peixes, não havendo descrição em crustáceos como o camarão. Este tipo de variação pode ser determinado pela fonte do alecrim, pela espécie de peixe utilizado, idade, sexo e condições experimentais como período de alimentação, temperatura, densidade de estocagem dentre outros fatores (HASSAN et al., 2018; YILMAZ et al., 2012).

Uma das principais atividades biológicas relatadas para o alecrim é a sua ação antioxidante. Como pode ser observado na figura 1, a suplementação com 15% de extrato de alecrim promoveu uma redução significativa dos níveis de GSH do hepatopâncreas em relação ao grupo controle. Ainda, ocorreram aumentos significativos da atividade da GR para os grupos 5% e 15% e para a atividade da GST foram observados aumentos significativos em todos os grupos experimentais em relação ao grupo controle. Em relação à avaliação do dano oxidativo, foram observados aumentos significativos dos níveis de peroxidação lipídica no grupo 15% de extrato de alecrim quando comparado ao grupo controle. Por outro lado, não foram observadas alterações dos níveis de proteína carbonilada no hepatopâncreas dos camarões em quaisquer dos grupos suplementados.

Figura 1 – Níveis de glutatona reduzida (GSH) (A) e atividade das enzimas glutatona redutase (GR) (B), glutatona S-Transferase (GST) (C), níveis de peroxidação lipídica (D) e de proteínas carboniladas (E) em hepatopâncreas de camarões alimentados com diferentes concentrações de extrato de alecrim. T0 (sem adição de extrato de alecrim), T1 (2% de adição de extrato de alecrim), T2 (5% de adição de extrato de alecrim) e T3 (15% de adição de extrato de alecrim). Os valores são expressos em médias ± desvio padrão. * estatisticamente diferente do controle (T0) pelo teste de Kruskal-Wallis ao nível de probabilidade ($p < 0,05$).



Os resultados do presente estudo apresentaram uma redução na concentração de GSH em proporção ao aumento da concentração de extrato na dieta dos camarões, acompanhado de aumentos de atividade da GR e GST. Estes resultados sugerem que o alecrim acelerou reações de biotransformação hepática via GST consumindo a GSH disponível. Ainda, o alecrim pode ter apresentado um efeito pró-oxidante (EGHBALIFERIZ; IRANSHAHI, 2016) ativando vias metabólicas produtoras de espécies reativas (induzindo uma condição de estresse oxidativo) e consumindo GSH enquanto um aumento de atividade de GR foi observado na tentativa de reequilibrar os níveis de GSH/GSSG e o status antioxidante da célula. Estes resultados foram corroborados pelo aumento da peroxidação lipídica observado no tratamento com maior concentração do extrato de alecrim indicando que esta planta ou algum de seus componentes específicos induziu um aumento de produção de espécies reativas alterando o estado redox das células e desencadeando aumento no ataque aos ácidos graxos de membrana.

Os polifenóis receberam atenção específica nas últimas décadas por causa de seu papel em uma variedade de propriedades biológicas (EGHBALIFERIZ; IRANSHAHI, 2016). Porém vários relatos mostram que os antioxidantes fenólicos podem agir como pró-oxidantes sob certas condições, incluindo altas concentrações de íons de metais de transição, pH alcalino e a presença de moléculas de oxigênio (BLOKHINA *et al.*, 2003; DUARTE; LUNEC, 2005). É assumido que essa atividade pró-oxidante pode induzir peroxidação lipídica, dano ao DNA e apoptose em células normais (CAROCHO; FERREIRA, 2013).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O uso do extrato de alecrim na ração de camarões não atuou como indutor de crescimento dos animais durante o período experimental. Além disso, o extrato de alecrim adiciona-

do à ração apresenta um potencial efeito pró-oxidante promovendo alterações fisiológicas significativas no camarão. A partir do exposto torna-se necessário mais estudos com diferentes doses/períodos de suplementação em camarões para se determinar o real potencial antioxidante e/ou pró-oxidante do alecrim.

AGRADECIMENTOS

Fomento: EDITAL N° 1010/GR/UFFS/2018 – bolsa de iniciação científica e recursos financeiros.

REFERÊNCIAS

- ANDRADE, J.M.; FAUSTINO, C.; GARCIA, C.; LADEIRAS, D.; REIS, C.P.; RIJO, P. *Rosmarinus officinalis* L.: an update review of its photochemistry and biological activity. *Future Sci.* (2018).
- BEUTLER, E.; DURON, O.; KELLY, B.M. Improved method for the determination of blood glutathione. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, v.163, n.61, p. 882-90, 1963.
- BLOKHINA, O.; VIROLAINEN, E.; FAGERSTEDT, K.V. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. *Annals of Botany*, n.91, p.179–194, 2003.
- CARLBERG, I.; MANNERVIK, B. **Glutathione Reductase**. *Methods in Enzymology*, v.113, 1985.
- CAROCHO, M.; FERREIRA, I.C.F.R. A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: Natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. *Food and Chemical Toxicology*, v.51, p.15-25, 2013.
- D'ABRAMO, L. R.; NEW, M. B. Nutrition, Feeds and Feeding. In: NEW, M. B.; VALENTI, W. C.; TIDWELL, J.; D'ABRAMO, L.; KUTTY, N. (Editores). **Freshwater prawns: biology and farming**. Wiley-Blackwell, Oxford, England. 560 p. 2010.
- EGHBALIFERIZ, S.; IRANSHAHI, M. Prooxidant Activity of Polyphenols, Flavonoids, Anthocyanins and Carotenoids: Updated Review of Mechanisms and Catalyzing Metals. *Phytotherapy Research*, v.30, p.1379–1391, 2016.
- FEDERICI, G.; SHAW B.J.; HANDY R.D. Toxicity of titanium dioxide nanoparticles to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): gill injury, oxidative stress, and other physiological effects. *Aquatic Toxicology*, v.84, n.4, p.415-30, 2007.
- FERNANDEZ, I.; MOYANO, F.J.; DIAZ, M.; MARTINEZ, T. **Characterization of [alpha]-amylase activity in five species of Mediterranean sparid fishes (*Sparidae*, *Teleostei*)**. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, v. 262, p. 1-12, 2001.
- GANDRA, E.A.; et al. Potencial antimicrobiano e antioxidante de extratos vegetais de alecrim, erva doce, estragão e orégano. *Revista Ciência e Tecnologia*. v.15, n.20, 2013.
- HABIG, W.H.; PABST, M.J.; JAKOBY, W.B. Glutathione S-Transferases: The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *Journal of Biological Chemistry*, 1974.
- HASSAN, A.A.M.; et al. Effects of Some Herbal Plant Supplements on Growth Performance and the Immune Response in Nile Tilapia (*Oreochromis Niloticus*). **International Conference "Agriculture for Life, Life for Agriculture"**, v.1, p.134–141, 2018.
- LEITE, KARINA; KUROSAKI, JESSICA KIMIE DE ALMEIDA ROSA ; RETCHESKI, MILENA CIA ; TORMEN, LUCIANO ; ROMÃO, SILVIA ; PINTO, VANIA ZANELLA ; CAZAROLLI, LUISA HELENA . **Effect of Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) Extract on the Antioxidant Status and Proximate Composition of Prawn (*Macrobrachium rosenbergii*) Meat**. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, v. 30, p. 683-693, 2021.
- LEVINE R. L.; et al. Assays for determination of oxidatively modified proteins. *Methods in Enzymology*, v.233, 1994.