



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS - CCA
PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA

Caio Francisco Santana Farias

Farmacocinética e metabolismo do óleo essencial de manjeriço (*Ocimum basilicum*) como anestésico para tambaqui (*Colossoma macropomum*)

Florianópolis

2023

Caio Francisco Santana Farias

Farmacocinética e metabolismo do óleo essencial de manjeriço (*Ocimum basilicum*) como anestésico para tambaqui (*Colossoma macropomum*)

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Aquicultura da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito parcial para a obtenção do título de mestre em aquicultura.

Orientador: Prof. Maurício Laterça Martins, Dr.
Coorientadora: Profa. Arlene Sobrinho Ventura, Dra.

Florianópolis

2023

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Farias, Caio Francisco Santana
Farmacocinética e metabolismo do óleo essencial de
manjerição (*Ocimum basilicum*) como anestésico para
tambaqui (*Colossoma macropomum*) / Caio Francisco Santana
Farias ; orientador, Maurício Laterça Martins,
coorientadora, Arlene Sobrinho Ventura, 2023.
60 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa
Catarina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós
Graduação em Aquicultura, Florianópolis, 2023.

Inclui referências.

1. Aquicultura. 2. Absorção. 3. Depuração. 4. Metil
chavicol. 5. Linalol. I. Martins, Maurício Laterça. II.
Ventura, Arlene Sobrinho. III. Universidade Federal de
Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Aquicultura.
IV. Título.

Caio Francisco Santana Farias

Farmacocinética e metabolismo do óleo essencial de manjeriço (*Ocimum basilicum*) como anestésico para tambaqui (*Colossoma macropomum*)

O presente trabalho em nível de mestrado foi avaliado e aprovado, em 01 de março de 2023, pela banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Prof. Maurício Laterça Martins, Dr.
Universidade Federal de Santa Catarina

Mariana Rangel Pilotto Dra.
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof. Mauro Alves da Cunha, Dr.
Universidade Federal de Santa Maria

Certificamos que esta é a versão original e final do trabalho de conclusão que foi julgado adequado para obtenção do título de mestre em aquicultura.

Insira neste espaço a
assinatura digital

Coordenação do Programa de Pós-Graduação

Insira neste espaço a
assinatura digital

Prof. Maurício Laterça Martins, Dr.
Orientador

Florianópolis, 2023.

Dedico este trabalho a minha mãe Nazaré, ao meu pai Cristomário, ao meu irmão gêmeo Caik e ao meu irmão mais novo Casio.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a minha família por ser minha base, por acreditar em mim e por permitir muitas vezes com sacrifício que eu seguisse neste caminho.

Agradeço ao meu orientador Prof. Dr. Maurício Laterça Martins, sempre foi um sonho trabalhar com o ele, a confiança e orientação recebida levarei para vida toda.

Agradeço a minha coorientadora Dra. Arlene Sobrinho Ventura que foi fundamental para o desenvolvimento deste material, sou grato pela parceria e ensinamentos.

Agradeço a Prof. Dra. Gabriela Jerônimo que me ajudou nessa jornada, que um dia eu possa retribuir.

Agradeço aos colegas que me incentivaram a fazer a seleção de mestrado e aos que conheci durante a jornada em Florianópolis.

O presente trabalho foi realizado com apoio o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível superior Brasil – (CAPES), código de financiamento 001.

RESUMO

As práticas de manejo frequentes no sistema de produção, são estímulos estressores quando há a quebra da homeostase. Altos níveis de estresse na criação de peixes são uma ameaça relevante, no entanto o uso de anestésicos é uma alternativa. Além dos sintéticos, os anestésicos de origem natural tiveram eficácia comprovada na redução de respostas de estresse. Porém os mecanismos de ação e as vias no organismo dos peixes são pouco avaliadas. O objetivo deste estudo foi avaliar o perfil farmacocinético do óleo essencial (OE) de manjerição (*Ocimum basilicum*) em juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum*). No ensaio I foi avaliada a indução anestésica nos juvenis ($119,9 \pm 9,2$ g) expostos a $800 \mu\text{L L}^{-1}$ de OE por 10 min seguido de coleta de sangue, músculo e tecido cerebral após 2, 4, 6, 8 e 10 min para determinar o tempo de absorção e distribuição do metil chavicol e linalol compostos majoritários do OE; a concentração de lactato e amônia na musculatura; e os níveis plasmáticos de lactato, cloreto, amônia e cálcio total. No ensaio II, a indução anestésica ocorreu no mesmo tempo e concentração, as coletas de sangue, músculo e tecido cerebral foram realizadas nos tempos 0.0, 0.5, 1.0, 3.0 e 6.0h para quantificar a eliminação de metil chavicol e linalol, além da avaliação histológica das brânquias, fígado e baço. No ensaio I, a absorção e distribuição de ambos os compostos foi rápida, pois foram identificados no plasma, músculo e cérebro desde os 2 min, com concentrações máximas em até 6 min. No ensaio II, a meia vida nos três tecidos foram de 0.30, 1.59 e 0.69h para o metil chavicol e 0.46, 0.32 e 0.33h para o linalol, que são considerados valores baixos. As lesões histológicas observadas nas brânquias de 0 a 3h foram reversíveis, após 6 h de indução anestésica o órgão havia se recuperado, no fígado e no baço não ocorreram alterações em nenhum dos tempos avaliados. Neste estudo os resultados bioquímicos e da farmacocinética afirmam que o OE de *O. basilicum* na concentração de $800 \mu\text{L L}^{-1}$ é um anestésico seguro para o tambaqui, pois inibe repostas ao estresse, além de ser rapidamente eliminado do organismo do peixe. Os resultados deste estudo são fundamentais para o desenvolvimento de pesquisas com anestésicos, para que sejam avaliados os parâmetros farmacocinéticos.

Palavras-chave: Aquicultura, absorção, depuração, metil chavicol e linalol.

ABSTRACT

The frequent management practices in the production system are stressful stimuli when homeostasis is disrupted. High levels of stress in fish farming are a relevant threat, however the use of anesthetics is an alternative. In addition to synthetic anesthetics, anesthetics of natural origin have proven effective in reducing stress responses. However, the mechanisms of action and pathways in the fish organism are poorly evaluated. This study aimed to evaluate the pharmacokinetic profile of basil (*Ocimum basilicum*) essential oil (EO) in juvenile tambaqui (*Colossoma macropomum*). In assay I, induction of anesthesia was evaluated in juveniles (119.9 ± 9.2 g) exposed to $800 \mu\text{L L}^{-1}$ EO for 10 min. followed by blood samples, muscle, and brain tissues were collected at 2, 4, 6, 8, and 10 min for determining the time of absorption and distribution of methyl chavicol and linalool; the concentrations of lactate and ammonia in the muscles; and the plasma levels of lactate, chloride, ammonia, and total calcium. In the second assay, anesthetic induction was performed at the same time and concentration, and samples were collected at 0.0, 0.5, 1.0, 3.0, and 6.0h. For quantifying the elimination of methyl chavicol and linalool, the gills, liver, and spleen of the fish were evaluated. In assay I, the uptake and distribution of both compounds were rapid, as they were identified in the plasma, muscle, and brain as early as 2 min, with maximum concentrations attained within 6 min. In assay II, the half-lives in the three tissues were 0.30, 1.59, and 0.69h for methyl chavicol and 0.46, 0.32, and 0.33h for linalool, which were considered low values. The lesions observed in the gills from 0 to 3h were reversible because 6 h after induction, the organ had recovered, and no changes occurred in the liver and spleen. In this study, the biochemical and pharmacokinetic results affirm that the essential oil of *O. basilicum* at a concentration of $800 \mu\text{L L}^{-1}$ is a safe anesthetic for tambaqui, since it inhibits stress responses and it is rapidly eliminated from fish. The results of this study are fundamental for the development of research on anesthetics, in order to evaluate pharmacokinetic parameters

Keywords: Aquaculture, absorption, clearance, methyl chavicol, linalool.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ALT -	Alanina aminotransferase
AST -	Aspartato aminotransferase
ATPase α^1 -	Gene de regulação iônica
ATPase α^{1-b} -	Gene de regulação iônica
AU-	Ácido úrico
CC-	Genes relacionados a inflamação
CGB-	Contagem total de glóbulos brancos
CGV-	Contagem total de glóbulos vermelhos
CT-	Colesterol total
CV-	Volume Corpuscular
CXC-	Gene relacionado a inflamação
FR-	Frequência respiratória
GR-	Glutaciona redutase
GST-	Glutaciona S -transferase
Hb-	Hemoglobina
HSP27-	Proteína de choque térmico 27.
HSP70-	Proteína de choque térmico 70.
Ht-	Hematócrito
IgM-	Imunoglobulina
IgMH-	Gene relacionado ao sistema imunológico
MHC-	Gene relacionado ao sistema imunológico
miR-1-	MicroRNA-1
miR-10-	MicroRNA-10
miR-10c-	MicroRNA-10c
miR-10d-	MicroRNA-10d
miR-122-	MicroRNA-122
Na ⁺ Cl ⁻ -	Cloreto de Sódio
K ⁺ -	Potássio
Na ⁺ -	Sódio
NH ³ -	Amônia
NH ⁴ -	Amônio
NO ₂ -	Nitrito
NO ₃ -	Nitrato
OD-	Oxigênio Dissolvido
PCO-	Padrão de cor dos olhos
pH-	Potencial hidrogeniônico
PQ-	Paraquad
PT-	Proteína totais
RV-	Receptor de vitelogenia
SOD-	Superóxido dismutase
SPX1a e SPX1b	Genes relacionados com estresse após derrota social
VCP-	Volume Globular (PCV)

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Esquema de respostas ao estresse. Adaptado de Barton, (2002) e Oba; Mariano; Santos, (2009).	15
Figura 2. Desenho experimental do ensaio I.	33
Figura 3. Desenho experimental do ensaio II.	35
Figura 4. A concentração dos metabólitos lactato e amônia (mmol/g de tecido) no músculo de juvenis de tambaqui <i>Colossoma macropomum</i> após diferentes tempos de indução anestésica com óleo essencial de <i>Ocimum basilicum</i> . 39	
Figura 5. Concentração ($\mu\text{g kg}^{-1}$) de metil chavicol e linalol no plasma (a), músculo(b) e cérebro (c) de juvenis de tambaqui <i>Colossoma macropomum</i> após indução anestésica com óleo essencial de <i>Ocimum basilicum</i>	40
Figura 6. Alterações histológicas nas brânquias de juvenis de tambaqui <i>C. macropomum</i> após indução anestésica com óleo essencial de <i>O. basilicum</i>	42

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Estágios de indução anestésica.	20
--	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Respostas ao estresse em diferentes espécies de peixes de água doce, expostos a diferentes manejos durante as atividades de rotina em piscicultura comercial.	17
Tabela 2. Uso de produtos naturais como redutores de estresse em peixes expostos a diferentes manejos.	22
Tabela 3. Uso de produtos naturais adicionados na ração como redutores de estresse em peixes expostos a diferentes manejos.....	24
Tabela 4. Concentração dos compostos metil chavicol e linalol ($\mu\text{g kg}^{-1}$) no plasma, cérebro e músculo branco de juvenis de tambaqui <i>Colossoma macropomum</i> em diferentes tempos de indução anestésica com óleo essencial de <i>Ocimum basilicum</i>	38
Tabela 5. Concentração dos parâmetros bioquímicos no sangue de juvenis de tambaqui <i>Colossoma macropomum</i> em diferentes tempos de indução anestésica com óleo essencial de <i>Ocimum basilicum</i>	39
Tabela 6. Parâmetros farmacocinéticos dos compostos metil chavicol e linalol nos diferentes tecidos de tambaqui <i>Colossoma macropomum</i> após banho de 10 min em $800 \mu\text{L L}^{-1}$ de óleo essencial de <i>Ocimum basilicum</i>	41
Tabela 7. Intensidade de alterações histológicas nas brânquias de juvenis de tambaqui (<i>Colossoma macropomum</i>) em diferentes tempos de coleta, após 10 min de indução anestésica com $800 \mu\text{L L}^{-1}$ de óleo essencial de <i>Ocimum basilicum</i>	41

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
1.1	AQUICULTURA	13
1.2	ESTRESSE EM PEIXES EM SISTEMA DE CRIAÇÃO	13
1.3	ANESTESIA DE PEIXES	20
1.4	ANESTÉSICOS NA AQUICULTURA	21
1.4.1	ANESTÉSICOS NATURAIS.....	21
2	OBJETIVOS	26
2.1	OBJETIVO GERAL	26
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	26
3	ESTRUTURA DO TRABALHO	26
4	ARTIGO CIENTÍFICO	27
4.1	INTRODUÇÃO	30
4.2	MATERIAL E MÉTODOS.....	32
4.2.1	<i>Óleo essencial de Ocimum basilicum</i>	32
4.2.2	<i>Peixes</i>	32
4.2.3	<i>Ensaio I Absorção e distribuição</i>	33
4.2.4	<i>Análises bioquímicas</i>	33
4.2.5	<i>Parâmetros metabólicos amostragem e determinações</i>	33
4.2.6	<i>Sobrevivência</i>	34
4.2.7	<i>Ensaio II Depuração</i>	34
4.2.8	<i>Preparo de amostra e análise farmacocinética</i>	35
4.2.9	<i>Curva de quantificação dos compostos</i>	36
4.2.10	<i>Análises histológicas</i>	36
4.2.11	<i>Parâmetros farmacocinéticos</i>	37
4.2.12	<i>Análise estatística</i>	37
4.3	RESULTADOS.....	37
4.3.1	<i>Ensaio – I</i>	37
4.3.2	<i>Ensaio – II</i>	40
4.4	DISCUSSÃO	42
4.5	CONCLUSÃO	46
4.6	REFERÊNCIAS.....	46
	REFERÊNCIAS DA INTRODUÇÃO	52

INTRODUÇÃO

AQUICULTURA

A aquicultura é uma atividade que tem seus primeiros registros na China e no Egito antigo com a criação de carpas e tilápias. Por definição a aquicultura é a criação ou cultivo de organismos com ciclo de vida parcial ou totalmente em meio aquático. É composta pela criação de peixes (piscicultura), camarões (carcinocultura), moluscos (malacocultura) e anfíbios (ranicultura), além do cultivo de algas (algicultura). Com o crescimento populacional e o aumento da procura pela oferta de alimento a aquicultura é uma alternativa com potencial para suprir essa demanda (FAO, 2020; SIQUEIRA, 2018).

Nas últimas décadas a aquicultura é um dos setores de produção de alimento que mais cresce, no ano de 2020 atingiu 88 milhões de toneladas avaliadas em US\$ 265 bilhões (FAO, 2022). Esse crescimento aliado ao desenvolvimento de tecnologias sustentáveis agregou a aquicultura o termo revolução azul (MANSOUR et al., 2022). A piscicultura foi responsável por 57,5 milhões de toneladas em 2020, essa produção significativa é resultado do desenvolvimento de tecnologias assim como intensificação no sistema de produção, com densidades de estocagem elevada, troca parcial de água, mecanização e práticas de manejo mais frequentes (FAO, 2022; NEGM et al., 2021).

Para a manutenção da homeostase e bem estar dos peixes, é fundamental que seja mantido o equilíbrio dos fatores: qualidade da água, captura, biometria, transporte, nutrição, densidade de estocagem e temperatura (OLIVA-TELES, 2012; SANTOS; REZENDE; MORON, 2020; SHOURBELA et al., 2021; SOUZA et al., 2017; ZHAO et al., 2022). Quando um ou mais desses fatores, quebram esse equilíbrio, eles se tornam um estímulo causador de estresse. O que leva a uma série de respostas adaptativas e não adaptativas, que alteram a condição biológica, sendo uma ameaça à saúde dos peixes (BARTON, 2002; WENDELAAR-BONGA, 1997).

ESTRESSE EM PEIXES EM SISTEMA DE CRIAÇÃO

Na aquicultura altos níveis de estresse na criação de peixes são uma ameaça relevante, aumentam a suscetibilidade há doenças, causam alterações nas características organolépticas dos produtos de peixes e mortalidade (ARAÚJO et al., 2022). Ainda assim a piscicultura é um dos setores com maior produção na aquicultura

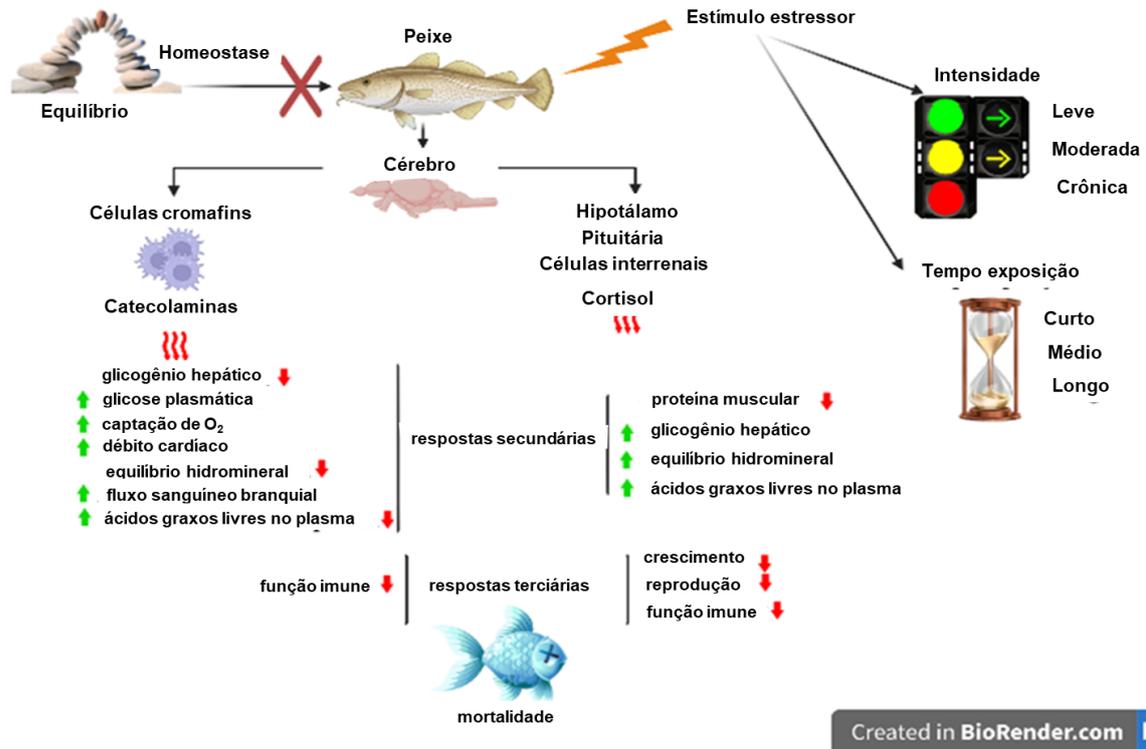
seja para o mercado de ornamentais ou para consumo humano (FAO, 2020). A intensificação no sistema de produção e as práticas de manejo foram fundamentais para o crescimento do setor. No entanto, o estado de estresse em peixes foi associado como resposta a manejos de rotina, principalmente quando não são seguidas as recomendações técnicas (MARTINS et al., 2013).

O estresse é a condição em que o estado de homeostase é ameaçado ou perturbado após um ou mais estímulos (estressores) desencadeando uma cascata de respostas fisiológicas (IWAMA et al., 2004; WENDELAAR-BONGA, 1997). Na aquicultura em sistemas de criação intensivo e superintensivo, altas densidades de estocagem, sistemas de recirculação de água e práticas de manejo são características fundamentais para o desenvolvimento da atividade, no entanto elas compõem um estado de equilíbrio sensível (GOMES et al., 2001; YOGEV; GROSS, 2019).

Quando o equilíbrio é quebrado os peixes entram num estado de estresse, que desencadeia uma série de respostas fisiológicas com o objetivo de compensar a demanda energética frente a um estímulo estressor e reestabelecer a homeostase. Dependendo do grau do estímulo (estressor) e da duração as respostas de estresse, são classificadas em respostas primárias, secundárias e terciárias (BARTON, 2002).

Após a percepção do estímulo estressor, o sistema nervoso central pela via das células cromafins libera as catecolaminas (resposta primária) que vão levar a uma diminuição do glicogênio hepático e do equilíbrio hidromineral; aumento da glicose plasmática, do débito cardíaco, do fluxo branquial (resposta secundária) e diminuição da função imune (resposta terciária). Pelo eixo HPI (hipotálamo, pituitária e inter-renal) induz a liberação de hormônios corticosteroides - cortisol (resposta primária), diminuição da proteína muscular, aumento do glicogênio hepático, equilíbrio hidromineral e ácidos graxos livres no plasma (resposta secundária, diminuição de crescimento reprodução e função imune (resposta terciária) (BARTON, 2002; OBA; MARIANO; SANTOS, 2009) figura 1. Essas rotas ativam os processos metabólicos para produção de energia complementar, para que o peixe escape ou se ajuste as novas condições (IWAMA et al., 2004). Para peixes, independente do estágio de desenvolvimento o cortisol plasmático é o principal indicador de estresse (SILVA et al., 2012; WENDELAAR-BONGA, 1997). No entanto, a exposição a estressores crônicos por um longo período compromete o crescimento, reprodução e pode levar a mortalidade (URBINATI; CARNEIRO, 2004).

Figura 1. Esquema de respostas ao estresse. Adaptado de Barton, (2002) e Oba; Mariano; Santos, (2009).



Fonte: elaborado pelo autor

O desenvolvimento de tecnologias e práticas de manejo, nos sistemas de criação de peixes permitiram aumentar a densidade de estocagem em um mesmo volume de água, ou seja, maior produção (kg) por m³. Por isso altas densidades de estocagem são uma prática comum na piscicultura. No entanto, quando não são respeitadas as recomendações para cada espécie de peixe e faixa de desenvolvimento, essa prática se torna estímulo estressor (FATIMA et al., 2021; JIA et al., 2022) Tabela 1. Atividades que exigem o manuseio dos peixes são cada vez mais frequentes em todas as fases de criação (alevinagem, recria e engorda). O manejo de reprodutores, biometrias parciais, avaliação sanitária e transporte são algumas dessas práticas (OLIVEIRA et al., 2007). Nesse cenário a captura e biometria são fundamentais para o desenvolvimento desses procedimentos, no entanto o ato captura (perseguição) retirada do peixe da água e exposição ao ar já foram descritos como causadores de estresse (HOHLENWERGER et al., 2016; KHANSARI et al., 2018; MARTINS et al., 2013; NEVES et al., 2022) Tabela 1.

As diferentes fases de criação podem ser realizadas dentro de uma mesma propriedade, no entanto é comum que o produtor de alevinos tenha como foco a

produção e venda dos mesmos, assim como, há produtores que se dedicam a fase de recria e engorda (OLIVEIRA et al., 2007). O transporte é uma prática indispensável no sistema de criação e na venda dos peixes, seja o transporte alevinos, de juvenis ou de adultos. Além disso, o transporte de peixes vivos é essencial para entrega de lotes a frigoríficos, para que sejam respeitados períodos antes do abate e processamento (KUBITZA; ONO, 2005). Embora o transporte seja fundamental ele já foi descrito como estímulo estressor (REN et al., 2022) Tabela 1.

O ambiente aquático é onde ocorre o desenvolvimento de todo o processo de criação de peixes, por isso a qualidade dos parâmetros de água são fundamentais para o sucesso da atividade. O equilíbrio de fatores como temperatura, pH, oxigênio dissolvido, alcalinidade, dureza e amônia compõem um ambiente aquático ideal. No entanto, estudos comprovaram que quando um ou mais desses fatores quebram esse equilíbrio eles promovem as respostas de estresse (CHEN et al., 2022; KORD et al., 2022; ZHAO et al., 2020) Tabela 1.

A especificidade dos peixes é um desafio para criação comercial, pois quando elementos que compõe esse sistema afetam o desempenho dos peixes eles se tornam estímulos estressores. A ração desbalanceada; pH, oxigênio dissolvido, temperatura fora da faixa ideal; altas densidades de estocagem; captura; biometria; transporte e níveis elevados de amônia na água já foram descritos como estímulos estressores (CHEN et al., 2022; JIA et al., 2022; KORD et al., 2022; LIU et al., 2022; NEVES et al., 2022; ZOU et al., 2017) Tabela 1.

Algumas das respostas de estresse dos peixes expostos a esses diferentes manejos incluem: aumento dos níveis plasmáticos de cortisol, glicose, lactato, amônia; o desbalanceamento dos íons de sódio, cloreto e potássio; a diminuição dos níveis de glicogênio no fígado e na musculatura; o aumento da concentração de lactato e amônia no músculo branco, níveis elevados de amônia total na água, taxa de ventilação aumentada (FÉLIX et al., 2021; GENNOTTE et al., 2012; LIU et al., 2022; NEVES et al., 2022) Tabela 1.

Tabela 1. Respostas ao estresse em diferentes espécies de peixes de água doce, expostos a diferentes manejos durante as atividades de rotina em piscicultura comercial.

Espécie	Manejo	Resposta	Referências
Manuseio de reprodutores			
Tilápia (<i>Oreochromis niloticus</i>)	Captura, extração (ovócito); banho 5 g L ⁻¹ NaCl (30 min).	↑-cortisol; ↓-ovulação, fecundidade relativa e total (♀).	GENNOTTE et al., 2012
Tilápia (<i>Oreochromis niloticus</i>)	Isolamento (2 dias) PCO	↓-quantidade e motilidade de esperma.	MANLICLIC; CRUZ, 2017
Tilápia (<i>Oreochromis niloticus</i>)	Isolamento (2 dias) PCO	↓-quantidade desova e de sementes.	CRUZ; JIMENEZ; APONGOL-RUIZ, 2020
Tilápia (<i>Oreochromis niloticus</i>)	37°C (60 dias)	↓-estradiol, vitelogenia, IgM; ↓-expressão HSP70.	MAHMOUD et al., 2020
Tilápia (<i>Oreochromis niloticus</i>)	Jejum 24h	↑-glicose.	ARAÚJO et al., 2022
Captura e biometria			
Tilápia (<i>Oreochromis niloticus</i>)	20 (min)	↑-cortisol.	MARTINS et al., 2013
Tilápia (<i>Oreochromis niloticus</i>)	1 (min)	↑-cortisol e glicose plasmática.	TEIXEIRA et al., 2017
Tilápia (<i>Oreochromis niloticus</i>)	1 (min)	↑-cortisol e glicose plasmática.	ZAHARAN et al., 2021
Truta arco-íris (<i>Oncorhynchus mykiss</i>)	30 (min)	↑-cortisol e glicose plasmática.	GESTO et al., 2021
Tambaqui (<i>Colossoma macropomum</i>)	3 (min)	↑-cortisol, glicose e lactato no plasma.	RUIZ-JARABO et al., 2020
Pacamã (<i>Lophiosilurus alexandri</i>)	1,5 (min)	↑-taxa de ventilação e glicose plasmática.	ANANIAS et al., 2022
Exposição ao ar			
Tilápia (<i>Oreochromis niloticus</i>)	30, 60 e 90 (min)	↑-glicose plasmática, neutrófilo; ↓ leucócitos.	SILVA et al., 2012
Tilápia (<i>Oreochromis niloticus</i>)	1 (min)	↑-cortisol e glicose plasmática.	HOHLENWERGER et al., 2016
Truta arco-íris (<i>Oncorhynchus mykiss</i>)	1 (min)	↑-cortisol no plasma e muco da pele.	KHANSARI et al., 2018
Truta arco-íris (<i>Oncorhynchus mykiss</i>)	3 (min)	↑-cortisol e glicose plasmática.	CADONIC; IKERT; CRAIG, 2020
Truta arco-íris (<i>Oncorhynchus mykiss</i>)	3 (min)	↑-cortisol, glicose no plasma e no muco da pele.	FRANCO- MARTINEZ et al., 2022
Tambaqui (<i>Colossoma macropomum</i>)	75 (min)	↑-mortalidade.	SILVA et al., 2021b
Tambaqui (<i>Colossoma macropomum</i>)	30 e 60 (min)	↑-glicose, lactato e Na ⁺ no plasma.	NEVES et al., 2022

(continua)

Tabela 1. Respostas ao estresse em diferentes espécies de peixes de água doce, expostos a diferentes manejos durante as atividades de rotina em piscicultura comercial.

(continuação)

Espécie	Manejo	Resposta	Referências
Transporte			
Tilápia (<i>Oreochromis niloticus</i>)	3,5h (21°C)	↑-cortisol e glicose plasmática.	NAVARRO et al., 2016
Tilápia (<i>Oreochromis niloticus</i>)	12, 24 e 48h	↑-mortalidade.	MANLICLIC; CORPUZ; CRUZ, 2018
Tilápia (<i>Oreochromis niloticus</i>)	4h	↑-cortisol e glicose plasmática.	SUTTHI; DOAN, 2020
Tilápia (<i>Oreochromis niloticus</i>)	1 e 6h (25°C)	↑-cortisol e glicose plasmática.	SHERIF et al., 2022
Tilápia (<i>Oreochromis niloticus</i>)	6h (25°C)	↑-taxa de ventilação; ↑-cortisol e glicose plasmática.	FÉLIX et al., 2021
Truta arco-íris (<i>Oncorhynchus mykiss</i>)	5h (10 a 13°C)	↑-cortisol e glicose plasmática.	TACCHI et al., 2015
Truta arco-íris (<i>Oncorhynchus mykiss</i>)	3h (23°C)	↓-qualidade físico-química e microbriana dos filés.	ZHAO et al., 2022
Truta arco-íris (<i>Oncorhynchus mykiss</i>)	4h (14 a 15°C)	↑-HSP70 na brânquia e no músculo; ↓-HSP70 no fígado.	REN et al., 2022
Carpa comum (<i>Cyprinus carpio</i>)	6h	↑-cortisol e glicose plasmática.	HOSEINI et al., 2022
Pacu (<i>Piaractus mesopotamicus</i>)	4h (29,5°C)	↑-cortisol e glicose plasmática.	ZANUZZO et al., 2017
Jundiá (<i>Rhandia quelen</i>)	8 e 12h	↑-mortalidade.	BITTENCOURT et al., 2018
Pacamã (<i>Lophiosilurus alexandri</i>)	3h	↑-mortalidade.	FAVERO et al., 2019
Bagre amarelo (<i>Pelteobagrus fulvidraco</i>)	12h (23 a 25°C)	↑-cortisol; ↑-níveis de amônia total na água.	LIU et al., 2022
Bagre amarelo híbrido (<i>Tachysurus fulvidraco</i> ♀ × <i>Pseudobagrus vachellii</i> ♂)	8 e 16h (26°C)	↑-glicose plasmática; ↑-AST.	ZHENG et al., 2022
Alta densidade de estocagem			
Tilápia (<i>Oreochromis niloticus</i>)	0,98 kg/m ³ (30 e 60 dias)	↑-cortisol.	MERLINI et al., 2014
Tilápia (<i>Oreochromis niloticus</i>)	2,4 kg/m ³ (183 dias)	↑-cortisol.	FATIMA et al., 2021
Tilápia (<i>Oreochromis niloticus</i>)	0,02 kg/m ³ (56 dias)	↑-ALT, AST amônia total na água e mortalidade.	NEGM et al., 2021
Tilápia (<i>Oreochromis niloticus</i>)	9,5 kg/m ³ (84 dias)	↑-glicose plasmática, e AST; ↑-amônia total na água; ↓-oxigênio dissolvido.	MAHMOUD et al., 2020
Truta arco-íris (<i>Oncorhynchus mykiss</i>)	40 e 80 kg/m ³ (30 dias)	↑-cortisol e lactato no plasma; ↑-expressão de HSP70.	YARAHMADI et al., 2016

(continua)

Tabela 1. Respostas ao estresse em diferentes espécies de peixes de água doce, expostos a diferentes manejos durante as atividades de rotina em piscicultura comercial. (conclusão)

Espécie	Manejo	Resposta	Referências
Alta densidade de estocagem			
Tambaqui (<i>Colossoma macropomum</i>)	1 e 1,6 kg/m ³ (53 dias)	↑-hemoglobina e hematócrito.	SANTOS et al., 2021
Tambaqui (<i>Colossoma macropomum</i>)	1,044 e 1,740 kg/m ³ (45 dias)	↓-ganho de peso (g) e crescimento (cm).	SILVA et al., 2021b
Parâmetros de qualidade da água			
Tilápia (<i>Oreochromis niloticus</i>)	Hipóxia 3 mmHg PO ² (5h)	↑-Ht; cortisol, glicose no plasma, lactato no músculo e fígado; ↓-FR.	ISHIBASHI et al., 2002
Tilápia (<i>Oreochromis niloticus</i>)	Paraquad 0,5 (mg L ⁻¹) (45 dias)	↑-SOD, GST.	FIGUEIREDO-FERNANDES et al., 2006
Tilápia (<i>Oreochromis niloticus</i>)	8 a 10°C	↑-mortalidade.	ZHU et al., 2015
Tilápia (<i>Oreochromis niloticus</i>)	37,5°C (24h)	↑-CGV, CGB e lisozima; ↑-mortalidade.	QIANG et al., 2017
Tilápia (<i>Oreochromis niloticus</i>)	35°C (12, 24 e 48h)	↑-Glicose, CGV, CGB, Hb, Ht, PT, CT, ALT e expressão miR-1, miR-122 e miR-10c.	BAO et al., 2018
Tilápia (<i>Oreochromis niloticus</i>)	8 a 10°C (96h)	↑-mortalidade; ↑-expressão miR-10, miR-10d, miR-10c no rim.	QIANG et al., 2018
Tilápia (<i>Oreochromis niloticus</i>)	8°C (6h)	↑-ALT, AST, NH ³ , AU.	ZHOU et al., 2019
Tilápia (<i>Oreochromis niloticus</i>)	Salinidade 20 (g L ⁻¹) (60 dias)	↑-mortalidade; ↓-expressão HSP27, Na ⁺ /K ⁺ -ATPase α^{1-a} , Na ⁺ /K ⁺ -ATPase α^{1-b} brânquias; ↓-HSP70, CC no fígado; ↑-MHC, CXC-quimiocina; ↓-IgMH no rim.	EL-LEITHY et al., 2019
Tilápia (<i>Oreochromis niloticus</i>)	↑-NH ³ (amônia), NO ² (nitrito), e NO ³ (nitrato)	↑-CGV, Hb, VCP, CGB, linfócitos e neutrófilos.	KORD et al., 2022
Carpa comum (<i>Cyprinus carpio</i>)	25 °C	↓-ganho de peso (g), ↓crescimento (cm); ↓-glicose plasmática.	CHEN et al., 2022
Tilápia (<i>Oreochromis niloticus</i>)	40 e 60 mmol L ⁻¹ de alcalinidade	↑-biossíntese de esteroides nas brânquias; metabolismo no rim; digestão e absorção de proteínas no fígado.	ZHAO et al., 2020
Exposição a estresse social			
Tilápia (<i>Oreochromis niloticus</i>)	♂ dominante 2h (dia) (5 dias)	↑-cortisol; ↑-expressão SPX1a e SPX1b.	LIM et al., 2020

O manejo estressor foi considerado na condição de cada estudo assim como espécie de peixe alvo.

ANESTESIA DE PEIXES

A anestesia é uma prática adotada em procedimentos de até 5 minutos com o objetivo de manter o bem estar do peixe e do operador. Dependendo do objetivo, a sedação também pode ser usada. No entanto, ela é normalmente usada no transporte de peixes, pois diminui a atividade dos peixes, o contato com a unidade de transporte o que evita a perda de muco, barreira física e química fundamental para a saúde dos peixes (HSEU et al., 1998; SOUZA et al., 2017, 2015).

As perdas econômicas geradas pelo estado de estresse dos peixes é um dos principais problemas na criação de peixes, com a diminuição do desempenho zootécnico, reprodução e em alguns casos mortalidade (PURBOSARI et al., 2019). Por isso o desenvolvimento de pesquisas que investiguem a anestesia e desenvolvam protocolos para espécies de interesse econômico são fundamentais. Nesse cenário o uso de anestésico é uma realidade na aquicultura, sendo os anestésicos sintéticos amplamente utilizados, nos últimos anos anestésicos a partir de produtos naturais tem sido desenvolvido. Em ambos os casos a eficácia anestésica foi alcançada (AYDIN; BARBAS, 2020).

A imersão em banho anestésico costuma ser a via de indução anestésica mais utilizada. Para avaliar a eficácia anestésica são avaliadas as repostas comportamentais denominadas estágios Quadro 1.

Quadro 1. Estágios de indução anestésica.

Estágios anestésicos	Respostas comportamentais em peixes
Normal	Reativo a estímulos externos, taxa de ventilação e tônus muscular normais.
Estágio I	Aumento da atividade de natação e taxa ventilatória em contato com o anestésico.
Estágio II	Perda parcial do equilíbrio, diminuição da reatividade e taxa ventilatória.
Estágio III	Perda total do equilíbrio, taxa de ventilação deprimida, sem reação a estímulos externos e peixe no fundo da unidade.
Recuperação	Equilíbrio, natação normal e reação a estímulos externos.

* (Adaptado de AYDIN et al., 2019; KEENE et al., 1998; SOUZA et al., 2015).

ANESTÉSICOS NA AQUICULTURA

Com o crescimento da aquicultura as práticas de manejo são mais frequentes, no entanto esse manuseio pode ser prejudicial aos peixes. Para minimizar os impactos negativos o uso de anestésicos é recomendado, pois facilita as atividades de manejo, garantindo a segurança do operador e mantendo o bem estar dos peixes (ANANIAS et al., 2022; AYDIN; BARBAS, 2020).

Um anestésico eficaz deve induzir anestesia em menos de 3 minutos e recuperação em menos de 5 minutos, além disso a margem de segurança, o custo benefício e uma rápida eliminação são características de um anestésico ideal (HSEU et al., 1998). Na aquicultura o uso de anestésicos é amplamente empregado, com destaque para dois grupos os sintéticos e os naturais. Protocolos estabelecidos, disponibilidade no mercado e dose eficaz baixa são pontos positivos para os sintéticos. Com destaque para o uso benzocaína (ANTUNES et al., 2008), metanossulfonato de tricaína-MS-222 (LIU et al., 2022), 2-phenoxyethanol (AYDIN et al., 2019), metomidato (SMALL, 2003), quinaldina (BIRCAN-YILDIRIM et al., 2010) e propofol (FÉLIX et al., 2021). A eficácia anestésica desses produtos já foi comprovada, no entanto respostas negativas já foram relatadas após o uso de anestésicos sintéticos. Como o aumento dos níveis plasmáticos de cortisol, glicose e proteína total, o desbalanceamento iônico, a perda de muco, resíduo na musculatura e danos as brânquias (RIBEIRO et al., 2019; WOSNICK et al., 2018).

1.1.1 ANESTÉSICOS NATURAIS

Com emprego de políticas sustentáveis e a preocupação com qualidade e segurança na criação de peixes ornamentais e destinados ao consumo humano, o desenvolvimento de pesquisas com produtos naturais como alternativa aos anestésicos sintéticos é fundamental (AYDIN; BARBAS, 2020). Resultados promissores utilizando óleos essenciais e seus isolados, com eficácia anestésica comprovada, rápida eliminação, boa margem de segurança para o peixe e operador são pontos positivos (PURBOSARI et al., 2019).

Os óleos essenciais são produtos naturais extraídas de raízes, caules ou partes aéreas de plantas. São compostos por um ou mais constituintes majoritários que são a maior parcela do óleo, mas há ainda compostos minoritários (KAYA et al., 2020). Os óleos essenciais de *Ocimum gratissimum* (SILVA et al., 2015b), *Ocimum americanum* (SILVA et al., 2015a), *Ocimum basilicum* (VENTURA et al., 2020) foram eficientes em

reduzir resposta de estresse em peixes por indução anestésica Tabela 2. A inclusão dos óleos essenciais na ração reduziu as respostas de estresse e aumentou a imunidade *Origanum vulgare* (MAGOUZ et al., 2022), *Ocimum gratissimum*, (BRUM et al., 2017) e *Ocimum basilicum* (CHUNG et al., 2020) Tabela 3.

O uso de extratos vegetais consiste na remoção seletiva de substâncias ou frações ativas contidas em diferentes tipos de plantas ou de outros produtos tendo sua obtenção através de extração a frio ou quente. Apesar de menos concentrados, os extratos vegetais também alcançaram resultados positivos com eficácia anestésica *Nectandra grandiflora* e *Spilanthes acmella* (BARBAS et al., 2017). Os hidrolatos são subprodutos da destilação a vapor (processo de extração de óleos essenciais), sendo o hidrolato de *Lippia alba* (SILVA et al., 2017) e o hidrolato do fruto de *Protium heptaphyllum* com eficácia anestésica comprovada na aquicultura (SILVA et al., 2020a) Tabela 2.

Tabela 2. Uso de produtos naturais como redutores de estresse em peixes expostos a diferentes manejos.

Espécie	Produto	Via	Concentração	Manejo	Resposta	Referências
		Banho		Exposição ao ar		
Jundiá (<i>Rhamdia quelen</i>)	<i>Ocimum gratissimum</i>	8,8 e 1,9 (min)	70 e 300 ($\mu\text{L L}^{-1}$)	1 (min)	evitou $\downarrow\uparrow$ de Na^+ .	SILVA et al., 2015b
Jundiá (<i>Rhamdia quelen</i>)	<i>Ocimum americanum</i>	4,5 e 3 (min)	300 e 500 (mg L^{-1})	1 (min)	\downarrow -cortisol.	SILVA et al., 2015a
Jundiá (<i>Rhamdia quelen</i>)	<i>Lippia alba</i>	5 e 2 (min)	100 e 300 ($\mu\text{L L}^{-1}$)	1 (min)	\downarrow -cortisol.	SOUZA et al., 2017
Jundiá (<i>Rhamdia quelen</i>)	<i>Eucalyptus globulus</i>	2,7 (min)	700 ($\mu\text{L L}^{-1}$)	biometria	\downarrow -cortisol.	SILVA et al., 2021a
Tilápia (<i>Oreochromis niloticus</i>)	<i>Aloysia triphylla</i>	2,8 (min)	300 ($\mu\text{L L}^{-1}$)	biometria	\downarrow -cortisol.	TEIXEIRA et al., 2017
Tambacu (<i>Piaractus mesopotamicus</i> × <i>Colossoma macropomum</i>)	<i>Lippia alba</i>	1,2 (min)	200 ($\mu\text{L L}^{-1}$)	2 (min)	\downarrow -cortisol.	SENA et al., 2016
Truta arco-íris (<i>Oncorhynchus mykiss</i>)	<i>Ocimum basilicum</i> <i>Eucalyptus globulus</i>	6,6 e 3,1 (min)	300 e 400 ($\mu\text{L L}^{-1}$)	indução anestésica	sem alterações histológicas (brânquias, fígado e rins).	YIGIT et al., 2022

(continua)

Tabela 2. Uso de produtos naturais como redutores de estresse em peixes expostos a diferentes manejos.

(conclusão)

Espécie	Produto	Via	Concentração	Manejo	Resposta	Referências
		Óleo essencial	Imersão	Transporte		
Tilápia (<i>Oreochromis niloticus</i>)	<i>Lippia alba</i>		20 ($\mu\text{L L}^{-1}$)	8h	↓-glicose plasmática; ↓ NH_3 .	HOHLENWEGER et al., 2016
Tilápia (<i>Oreochromis niloticus</i>)	<i>Aloysia triphylla</i>		30 ($\mu\text{L L}^{-1}$)	8h	evitou ↓↑ Na^+ Cl^- e K^+ ↓ glicose plasmática.	TEIXEIRA et al., 2018
Tilápia (<i>Oreochromis niloticus</i>)	<i>Ocimum basilicum</i>		20 ($\mu\text{L L}^{-1}$)	2h	↓-lactato; evitou ↑ Na^+ .	VENTURA et al., 2020
Tambaqui (<i>Colossoma macropomum</i>)	<i>Melaleuca alternifolia</i> + <i>Eugenia caryophyllus</i> .		10,4 (mg L^{-1})	15 e 36h	↓-glicose, lactato; ↓-amônia na água.	SANTOS; REZENDE; MORON, 2020
Tambaqui (<i>Colossoma macropomum</i>)	<i>Nectandra grandiflora</i>		30 ($\mu\text{L L}^{-1}$)	6h	↓-glicose plasmática Evita a ↓ OD.	BARBAS et al., 2020
Tambaqui (<i>Colossoma macropomum</i>)	<i>Lippia alba</i>		20 ($\mu\text{L L}^{-1}$)	17h	↓-pH; ↓-condutividade elétrica.	SILVA et al., 2020b
Espécie	Produto	Via	Concentração	Manejo	Resposta	Referências
		Óleo essencial	Imersão	Transporte		
Tambaqui (<i>Colossoma macropomum</i>)	<i>Hesperozygis ringens</i>		15 e 30 ($\mu\text{L L}^{-1}$)	24h	↓-amônia não ionizada.	FERREIRA et al., 2022
Tambacu (<i>Piaractus mesopotamicus</i> × <i>Colossoma macropomum</i>)	<i>Lippia alba</i>		10 ($\mu\text{L L}^{-1}$)	8h	↓-cortisol; ↓-amônia não ionizada.	SENA et al., 2016
		Hidrolato	Imersão	Transporte		
Tambaqui (<i>Colossoma macropomum</i>)	<i>Lippia alba</i>		5%	17h	evitou ↓↑- Cl^- e K^+ ; ↑-sobrevivência; ↓ NH_4^+ .	SILVA et al., 2017
Tambaqui (<i>Colossoma macropomum</i>)	<i>Protium heptaphyllum</i>		50 (mg L^{-1})	22h	evitou ↓↑- Cl^- , K^+ e ↑ células mucosas.	SILVA et al., 2020a
Tambaqui (<i>Colossoma macropomum</i>)	<i>Myrcia sylvatica</i>		5%	17h	evitou ↓↑ Na^+ Cl^- e K^+ e ↑ células mucosas.	COSTA et al., 2021

Tabela 3. Uso de produtos naturais adicionados na ração como redutores de estresse em peixes expostos a diferentes manejos.

Espécie	Produto	Via	Concentração	Manejo	Resposta	Referências
	Óleo essencial	Oral		Exposição		
Tilápia (<i>Oreochromis niloticus</i>)	<i>Origanum vulgare</i>	56 dias	0,5 e 1 (g Kg ⁻¹)	32 °C	↑-peso final (g), lisozima; ↓-HSP70.	MAGOUZ et al., 2022
Tilápia (<i>Oreochromis niloticus</i>)	Mentol (98%)	56 dias	0,20 e 0,30% (kg ⁻¹)	5 mg TA-N/L 6 h	↓-cortisol, glicose, HSP70; ↑-resistência a amônia.	MAGOUZ et al., 2021
Truta arco-íris (<i>Oncorhynchus mykiss</i>)	<i>Citrus limon</i>	56 dias	400 e 600 (mg L ⁻¹)	deltametrina	↓-cortisol; ↑-resistência.	RESKETI; YEGANEH; KHALILI, 2021
Espécie	Produto	Via	Concentração	Manejo	Resposta	Referências
	Óleo essencial	Oral		Desafio bacteriano		
Tilápia moçambicana (<i>Oreochromis mossambicus</i>)	<i>Citrus limon</i> (cascas)	60 dias	0,5, 0,75 e 1%	<i>Edwardsiella tarda</i>	↑-NBT e CGB; ↑ lisozima; ↓-glicose; ↑ sobrevivência.	BABA et al., 2016
Truta arco-íris (<i>Oncorhynchus mykiss</i>)	<i>Origanum onites</i>	90 dias	1,5 e 3,0 (mL k ⁻¹)	<i>Lactococcus garvieae</i>	↑-peso final (g), sobrevivência; ↓-conversão alimentar	DILER et al., 2017
Tilápia (<i>Oreochromis niloticus</i>)	<i>Ocimum gratissimum</i> <i>Zingiber officinale</i>	55 dias	0,5, 1 e 1,5%	<i>Streptococcus agalactiae</i>	↑-sobrevivência	BRUM et al., 2017
Truta arco-íris (<i>Oncorhynchus mykiss</i>)	<i>Thymus vulgaris</i>	60 dias	0,5 (mL kg ⁻¹)	<i>Aeromonas hydrophila</i>	↑-peso final (g), sobrevivência e função imune.	ZARGAR et al., 2019
Tilápia (<i>Oreochromis niloticus</i>)	<i>Mentha piperita</i>	50 dias	0,25%	<i>Streptococcus agalactiae</i>	↑-peso (g) e comprimento final (cm); ↑ proteína e sobrevivência.	SILVA et al., 2019
Espécie	Produto	Via	Concentração	Manejo	Resposta	Referências
	Óleo essencial	Oral		Alta densidade		
Tilápia (<i>Oreochromis niloticus</i>)	<i>Origanum vulgare</i>	90 dias	1 e 2 (mL kg ⁻¹)	4,6 kg m ³	↓-cortisol, glicose, alanina-aminotransferase; ↑-peso (g) e comprimento final (cm); ↓-conversão alimentar	SHOURBEL A et al., 2021
Pirarucu (<i>Arapaima gigas</i>)	<i>Ocimum basilicum</i>	48 dias	2 (mL kg ⁻¹)	7,56 kg m ³		CHUNG et al., 2020
Espécie de peixe	Produto	Via	Concentração	Manejo	Resposta	Referências
	Óleo essencial	Oral		Imunestimulante		
Truta arco-íris (<i>Oncorhynchus mykiss</i>)	<i>Thymus vulgaris</i> + Immunogen®	60 dias	1% + 0,1%; 2% + 0,2%	aditivo alimentar	↑-peso final (g), CV, sobrevivência; imunidade;	YOUSEFI et al., 2022

O uso de produtos naturais como alternativa aos sintéticos já é uma realidade, no entanto os mecanismos de absorção, distribuição, metabolização e eliminação são pouco investigados. Alguns estudos avaliaram as propriedades de anestésicos sintéticos: a farmacocinética do eugenol (GUÉNETTE et al., 2007) e do propofol (GOMUŁKA et al., 2015) em truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*). O uso de eugenol em linguado japonês (*Paralichthys olivaceus*) (TAGO et al., 2018), de MS-222 e isoeugenol em salmão do Atlântico (*Salmo salar*) (KIESSLING et al., 2009).

Nos anestésicos naturais: a eliminação do eugenol em transporte de carpa capim (ZHAO et al., 2017), os óleos essenciais de *Lippia alba* e *Lippia sidoides* na anestesia de *Piaractus mesopotamicus* (VENTURA et al., 2019a, 2019b) e farmacocinética do S-(+)-linalol em jundiá (*Rhamdia quelen*) após banho anestésico (BIANCHINI et al., 2019).

É necessário que sejam desenvolvidos estudos que investiguem mecanismos para validar o uso dos produtos naturais, pois mesmo que as respostas hematológicas, bioquímicas e enzimáticas dos peixes sejam importantes, o perfil de absorção, distribuição, metabolização e eliminação é fundamental para avaliação de produtos naturais. Um produto natural sem risco ao peixe ao operador e ao meio ambiente, não é a realidade na aquicultura, pois as práticas atuais não descrevem nem avaliam como o produto natural é absorvido, distribuído e eliminado. Nesse cenário, a farmacocinética e a farmacodinâmica são ferramentas fundamentais para responder esses processos e afirmar com base no conjunto de propriedades e respostas que o produto natural é eficiente e seguro.

O óleo essencial de manjeriço (*Ocimum basilicum*) já teve sua eficácia comprovada em anestesia, o tambaqui (*Colossoma macropomum*) é uma espécie que o perfil de respostas ao estresse é conhecido. Nesse cenário o presente estudo avaliou a farmacocinética como ferramenta para validar esse óleo essencial e agregar respostas que podem direcionar a novos estudos.

OBJETIVOS

OBJETIVO GERAL

Avaliar o perfil farmacocinético do óleo essencial de manjeriço (*Ocimum basilicum*) em juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum*)

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar as respostas fisiológicas, tempo de absorção e distribuição do metil chavicol e do linalol em diferentes tempos de indução anestésica;
- Determinar o tempo para eliminação do metil chavicol e do linalol.
- Avaliar o estado histológico das brânquias, fígado e baço após indução anestésica.

ESTRUTURA DO TRABALHO

O desenvolvimento deste trabalho está apresentado na forma de artigo científico que será submetido a publicação na revista *Aquaculture*.

ARTIGO CIENTÍFICO

Farmacocinética e metabolismo do óleo essencial de manjeriço (*Ocimum basilicum*) como anestésico para tambaqui (*Colossoma macropomum*)

Farias, C.F.S.¹; Ventura, A.S.²; Jerônimo, G.T.¹; Cardoso, C.A.L.⁴; Matos, L.V.³; Silva, G.S.³; Gonçalves, L.U.⁵; Povh, J.A.⁶; Martins, M.L.¹

¹Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Departamento de Aquicultura, AQUOS-Laboratório de Sanidade de Organismos Aquáticos, Rod. Admar Gonzaga, 1346, Florianópolis, SC, 88034-000, Brasil.

² Universidade Federal da Grande Dourados, Faculdade de Ciências Agrárias (FCA), Rodovia Dourados/Itahum, Km 12, Unidade II, Caixa Postal 364, 79804-970 Dourados, MS, Brasil.

³Universidade Federal do Amazonas (UFAM), Av. Rodrigo Otávio, 6200, Manaus, AM 69080-900, Brasil

⁴Centro de Estudos em Recursos Naturais (CERNA), Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, Cidade Universitária de Dourados, Rodovia Itahum, Km 12, s/n, Dourados-MS, 79804-970, Brasil

⁵Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), Av. André Araújo, 2936, Manaus, AM 69060-001, Brasil

⁶Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FAMEZ), Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Av. Sen. Filinto Müller, 2443, Campo Grande, MS 79070-900, Brasil

DESTAQUES

-Óleo essencial de *Ocimum basilicum* reduziu as repostas ao estresse em *Colossoma macropomum*.

-A absorção e distribuição do metil chavicol e linalol nos tecidos foi rápida.

-As alterações histológicas inicialmente causadas foram reversíveis 6 h após a anestesia.

-A meia vida do metil chavicol e linalol no plasma e cérebro foi inferior a 1 h.

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar o perfil farmacocinético do óleo essencial (OE) de manjerição (*Ocimum basilicum*) em juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum*). No ensaio I foi avaliada a indução anestésica nos juvenis ($119,9 \pm 9,2$ g) expostos a $800 \mu\text{L L}^{-1}$ de OE por 10 min. Foi coletado sangue, músculo e tecido cerebral aos 2, 4, 6, 8 e 10 min para determinar o tempo de absorção e distribuição do metil chavicol e linalol compostos majoritários do (OE); a concentração de lactato e amônia na musculatura; e os níveis plasmáticos de lactato, cloreto, amônia e cálcio total. No ensaio II, a indução anestésica ocorreu no mesmo tempo e concentração, as coletas de sangue, músculo e tecido cerebral as 0,0; 0,5; 1,0; 3,0 e 6,0 h para quantificar a eliminação de metil chavicol e linalol, além da avaliação histológica das brânquias, fígado e baço. No ensaio I, a absorção e distribuição de ambos os compostos foi rápida, pois foram identificados no plasma, músculo e cérebro desde os 2 min, com concentrações máximas em até 6 min. No ensaio II, no plasma a meia vida metil chavicol foi de 0,30h e do linalol 0,46h, no músculo foi de 1,59h para o metil chavicol e 0,32h para o linalol, já no cérebro para o metil chavicol foi de 0,69h e para o linalol foi de 0,33h, que são considerados valores baixos. As lesões histológicas observadas nas brânquias de 0 a 3 h foram reversíveis, após 6 h de indução anestésica o órgão havia se recuperado, no fígado e no baço não ocorreram alterações em nenhum dos tempos avaliados. Neste estudo os resultados bioquímicos e da farmacocinética afirmam que o OE de *O. basilicum* na concentração de $800 \mu\text{L L}^{-1}$ é um anestésico seguro para o tambaqui, pois inibe repostas ao estresse, além de ser rapidamente eliminado do organismo do peixe.

Palavras-chaves: Aquicultura, anestesia, absorção, depuração, metil chavicol, linalol.

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the pharmacokinetic profile of basil (*Ocimum basilicum*) essential oil (EO) in juvenile tambaqui (*Colossoma macropomum*). The assay I evaluated the anesthetic induction in juveniles (119.9 ± 9.2 g) exposed to $800 \mu\text{L L}^{-1}$ of EO for 10 min. followed by blood samples, muscle and brain tissue were collected at 2, 4, 6, 8 and 10 min to determine the absorption time and distribution of methyl chavicol and linalool, majority compounds of the EO; the concentration of lactate and ammonia in the muscles; and the plasma levels of lactate, chloride, ammonia and total calcium. In trial II, anesthetic induction occurred at the same time and concentration, blood, muscle and brain tissue were collected at 0.0, 0.5, 1.0, 3.0 and 6.0 h to quantify the elimination of methyl chavicol and linalool, and histological evaluation of gills, liver and spleen. In assay I, the uptake and distribution of both compounds was rapid, as they were identified in plasma, muscle, and brain as early as 2 min, with maximum concentrations within 6 min. In assay II, the half-lives in the three tissues were 0.30; 1.59 and 0.69 h for methyl chavicol and 0.46; 0.32 and 0.33 h for linalool, which are considered low values. The histological lesions observed in the gills from 0 to 3 h were reversible, after 6 h of anesthetic induction the organ had recovered, in the liver and spleen there were no changes in any of the evaluated times. In this study, the biochemical and pharmacokinetic results affirm that the OE of *O. basilicum* at $800 \mu\text{L L}^{-1}$ is a safe anesthetic for tambaqui, since it inhibits stress response and is rapidly eliminated from the fish organism.

Keywords: Aquaculture, anesthesia, absorption, depuration, methyl chavicol, linalool.

INTRODUÇÃO

Em aquicultura, a prática de altas densidades de estocagem favorece o contato do animal cultivado com patógenos do ambiente, facilitando o surgimento de doenças, podendo culminar altas mortalidades e conseqüentemente gerar perdas econômicas consideráveis (Kent, 2000; Wise et al., 2021). Em sistemas intensivos práticas de manejo são rotina. Visando diminuir as perdas relacionadas as respostas ao estresse de manejo, o uso de anestésicos é recomendado (Inoue et al., 2011; Iwama et al., 2004).

Anestésicos sintéticos são amplamente usados em peixes cultivados, com destaque para benzocaína (BZN) e metanossulfonato de tricafina (MS-222). Porém, mesmo que eficientes na anestesia, estes produtos possuem pontos negativos como capacidade de gerar resíduos na musculatura (MS-222) e a baixa margem entre dose eficaz e letal (BZN) (Antunes et al., 2008; Pereira et al., 2014). A eficácia de um anestésico está associada a uma dose ótima, que seja capaz de induzir à anestesia em menos de três minutos e recuperação em menos de cinco minutos (Hseu et al., 1998). Além disso, para validação de um anestésico apto para uso em aquicultura, são avaliadas as respostas ao estresse como, aumento dos níveis plasmáticos de cortisol, glicose (Davis e Griffin, 2004), lactato, amônia e os íons de sódio, cloreto e potássio (Inoue et al., 2004), as concentrações de glicogênio no fígado e no músculo (Barbosa et al., 2007) assim como lactato e amônia na musculatura (Smutná et al., 2002).

Embora os anestésicos sintéticos sejam essenciais durante as práticas de manejo, o próprio anestésico pode causar perda de muco, irritação nas brânquias e danos a córnea dos peixes quando expostos aos produtos (Inoue et al., 2003). Além disso, pode induzir repostas ao estresse como aumento nos níveis plasmáticos de glicose, cortisol, lactato, desbalanceamento eletrolítico e alterações hematológicas (Davis e Griffin, 2004; Shakeri et al., 2016; Small, 2004). Nesse cenário são fundamentais pesquisas com anestésicos alternativos de origem natural, eficientes na sedação e anestesia que não causem alterações persistentes nos peixes (Zeppenfeld et al., 2019).

Uma alternativa ao uso de anestésicos sintéticos são os óleos essenciais extraídos de plantas que podem ser obtidos por meio de diferentes tipos de extração sendo a destilação a vapor um dos métodos mais utilizados (Kaya et al., 2020). O

resultado desse processo é um concentrado de princípios bioativos denominados óleos essenciais, com um ou mais compostos majoritários que são os responsáveis pelas propriedades anestésicas (Priborsky e Velisek, 2018).

Em estudos investigando a eficiência dos óleos essenciais de eucalipto (*Eucalyptu globulus*) (Silva et al., 2021) e manjeriço (*Ocimum basilicum*) (Ventura et al., 2021) tiveram sua eficácia comprovada na sedação e anestesia de peixes reduzindo repostas ao estresse e facilitando o manejo. Os compostos linalol e metil chavicol são constituintes majoritários do óleo essencial de manjeriço (*Ocimum basilicum*) (Ventura et al., 2021). Além de serem recomendados para sedação e anestesia, nesses estudos foram registrados a redução das repostas ao estresse.

O tambaqui (*Colossoma macropomum*) é a espécie nativa mais produzida no Brasil (Baldisserotto, 2020; Lima et al., 2020). Por ser uma espécie de importância econômica estudos avaliaram as suas respostas de estresse, como alterações nos níveis plasmáticos de cortisol, glicose, amônia, lactato (Inoue et al., 2011; Santos et al., 2020). A concentração de proteína total, colesterol e triglicerídeos (Boaventura et al., 2022), os níveis de cortisol hepático e muscular e o estado histológico das brânquias (Santos et al., 2020). O conhecimento dessas respostas faz do tambaqui (*Colossoma macropomum*) uma espécie modelo e a eficiência anestésica do óleo essencial de manjeriço (*Ocimum basilicum*) em peixes justificam este estudo.

As respostas ao estresse são importantes, mas as características farmacocinéticas e farmacodinâmicas são fundamentais para sustentar o uso de novos anestésicos na aquicultura, pois a escassez de anestésicos autorizados é uma realidade (Santos e Cunha, 2021). Poucos são os estudos que avaliam o comportamento de absorção, distribuição, metabolização e excreção dos óleos essenciais como anestésicos em peixes (Bianchini et al., 2019; Ventura et al., 2019a, 2019b). A partir de pesquisas de óleos essenciais como anestésicos alternativos para aquicultura, e a necessidade de um produto seguro para os peixes e para o consumidor, este estudo teve como objetivo avaliar o perfil farmacocinético do óleo essencial de *O. basilicum* em tambaqui (*Colossoma macropomum*).

MATERIAL E MÉTODOS

1.1.2 Óleo essencial de *Ocimum basilicum*

O óleo essencial utilizado no presente estudo foi adquirido comercialmente (Phytoterápica®, Nova Cantareira, Brasil). As análises de composição química foram realizadas por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM), conforme descrito por Ventura et al. (2019a).

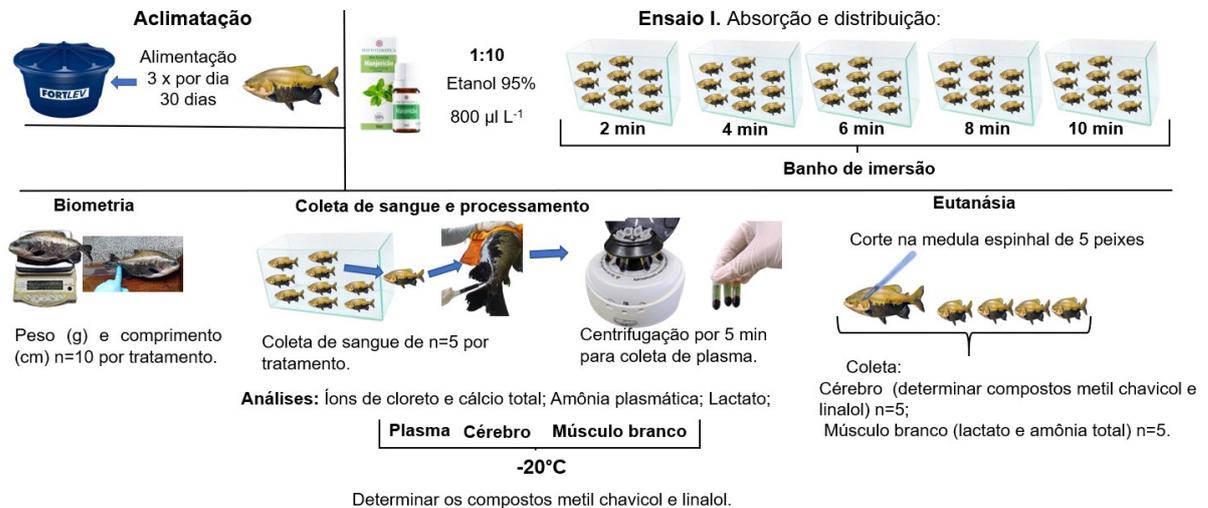
1.1.3 Peixes

Este estudo foi conduzido de acordo com a aprovação do Comitê de ética de Uso de Animais em Pesquisa da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul com o protocolo de aprovação nº1073/2019, e protocolo do SEI: 23104.022371/2019-06. Juvenis de tambaqui com peso de $119,9 \pm 9,2$ g e comprimento total de $19,1 \pm 0,9$ cm ($n = 90$) foram mantidos em tanque de fibra de vidro de 1000L por 30 dias para aclimação. Durante aclimação os peixes foram alimentados até a saciedade aparente três vezes ao dia com dieta comercial (Multi Peixe 32 - Multifós®) com pélete de 4 - 6 mm (32% de proteína bruta; 6,0% fibra bruta; 8,0% de matéria mineral; 4,5% de extrato etéreo; 9,2% de umidade; e 1,9% de cálcio). A alimentação foi suspensa 24 horas antes do início do experimento.

Na aclimação e no período experimental os parâmetros de qualidade de água foram monitorados quanto a temperatura ($27,68 \pm 0,33$ °C) e oxigênio dissolvido ($7,15 \pm 0,12$ mg L⁻¹) com oxímetro AT 155 Microprocessado (Alfakit®, Florianópolis, Brasil), pH ($6,32 \pm 0,28$) com pHmetro AT 315 Microprocessado (Alfakit®, Florianópolis, Brasil), nitrogênio amoniacal total ($0,13 \pm 0,07$ mg L⁻¹), alcalinidade ($40,0 \pm 0,01$ mg L⁻¹), nitrito ($0,10 \pm 0,01$ mg L⁻¹) e nitrato ($1,90 \pm 0,20$ mg L⁻¹) foram monitorados com kit comercial (Alfakit®, Florianópolis, Brasil). Os parâmetros de qualidade da água foram mantidos de acordo com os requisitos da espécie de acordo com (Boyd, 1998)

1.1.4 Ensaio I Absorção e distribuição

Figura 2. Desenho experimental do ensaio I.



O óleo essencial de *O. basilicum* foi previamente diluído em etanol a 95% (1:10). Os juvenis de tambaqui $115,5 \pm 7,1$ g (n=50) foram expostos ao banho de imersão com $800 \mu\text{l L}^{-1}$ ($724,53 \text{ mg mL}^{-1}$) de óleo essencial de *O. basilicum* em diferentes tempos de indução anestésica (2, 4, 6, 8 e 10 min). A concentração anestésica do óleo essencial utilizada neste estudo foi definida de acordo com Ventura et al. (2021). Após os respectivos tempos de contato, os peixes foram removidos e submetidos a colheita sanguínea (n=5) por tratamento por punção venosa caudal com uma seringa com EDTA a 10% (ácido etilenodiaminotetracético). Após a coleta de sangue, os peixes (n=5 por tratamento), foram eutanasiados por secção da medula, e fragmentos do cérebro e músculo branco foram coletados e congelados a -20°C , para determinação do teor dos compostos do óleo essencial.

1.1.5 Análises bioquímicas

O sangue coletado foi centrifugado a $3000 \times g$ por 7 min para obtenção do plasma e posteriormente armazenada a -20°C . Em seguida, os metabólitos lactato (Harrower e Brown, 1972), amônia plasmática (Verdouw et al., 1978) foram dosados de acordo com a metodologia. Os íons plasmáticos cloreto (Cl^-) e cálcio total foram dosados por espectrofotometria, utilizando um kit comercial (Labtest®).

1.1.6 Parâmetros metabólicos amostragem e determinações

Fragmentos do músculo branco (n=5 por tratamento) foram homogeneizados em 250 mg mL^{-1} de TCA a 20% (ácido tricloroacético), utilizando homogeneizador Potter-Elvehjem. Posteriormente, o homogenato foi centrifugado a $1000 \times g$ por 10 min (Centribio 80-2B) e o sobrenadante foi utilizado para a determinação dos

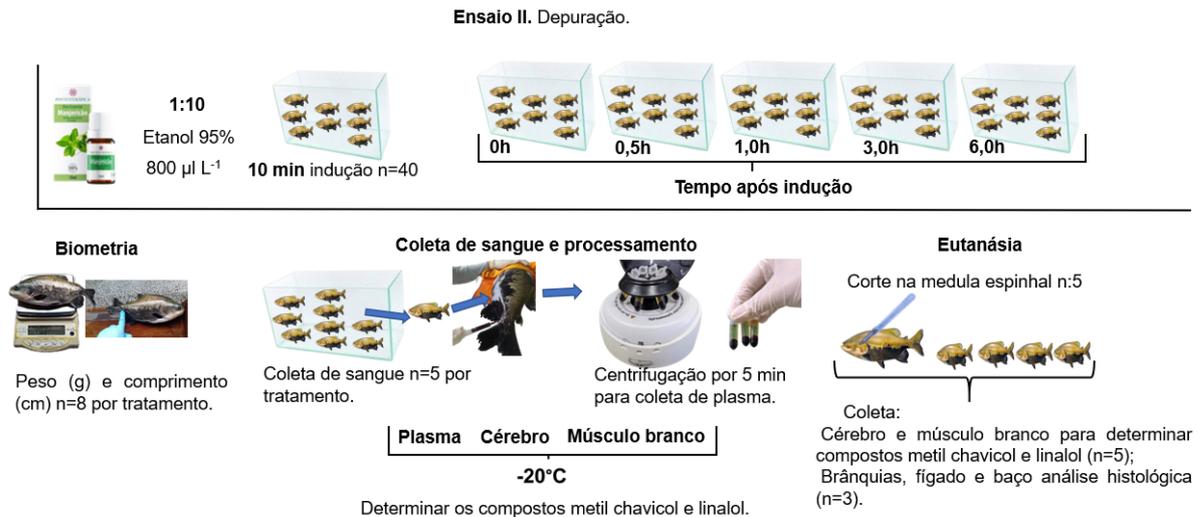
parâmetros metabólicos lactato e amônia. O lactato foi mensurado usando o método descrito por Harrower e Brown (1972). A amônia total foi de acordo com Verdouw et al. (1978).

1.1.7 Sobrevivência

Após a indução anestésica 5 peixes de cada tratamento respectivamente foram transferidos para caixas de 1000l para avaliação da sobrevivência até 96h.

1.1.8 Ensaio II Depuração

Figura 3. Desenho experimental do ensaio II.



Juvenis de tambaqui $125,5 \pm 8,3$ g (n=40) foram expostos ao banho de imersão com $800 \mu\text{L}^{-1}$ ($724,53 \text{ mg mL}^{-1}$) de óleo essencial de *O. basilicum*, que corresponde a concentração calculada de $532,27 \mu\text{L}^{-1}$ ($481,97 \text{ mg mL}^{-1}$) do composto metil chavicol e $267,73 \mu\text{L}^{-1}$ ($242,56 \text{ mg mL}^{-1}$) do composto linalol. Após o período de contato de 10 min com a solução anestésica, os peixes foram imersos em água livre de anestésico de forma individualizada e distribuídos em diferentes aquários para recuperação anestésica nos diferentes tempos 0, 0,5, 1,0, 3,0, 6,0 h (1 aquário para cada tempo com 8 peixes em cada). O tempo de recuperação zero foi considerado logo após concluir os 10 min de exposição ao óleo essencial de *O. basilicum*. A água do tanque de aclimatação foi utilizada nos aquários para anestesia e recuperação dos peixes, para manter as mesmas condições durante o período experimental, a qualidade de água de todos os aquários se manteve dentro da faixa adequada para a espécie conforme descrito anteriormente.

1.1.9 Preparo de amostra e análise farmacocinética

As amostras foram descongeladas em ambiente com temperatura controlada (22 C°). Foram pesados 2 g de tecido muscular. O cérebro foi utilizado integralmente, em seguida foi adicionado 3 mL de hexano grau cromatográfico. Do sangue foi obtido o plasma e a partir do plasma foi adicionado 1 mL de plasma para 1 mL de hexano grau cromatográfico. Posteriormente, todas as amostras de plasma ou tecido, separadamente, foram homogeneizadas e agitadas em cuba ultrassônica (L 100 - Schuster) com temporizador por 30 min. A fração hexânica foi filtrada e o resíduo foi novamente extraído por três vezes consecutivas com a mesma amostra e o mesmo volume de hexano usado na primeira extração e as frações hexânicas de cada

respectiva amostra foram unidas para posterior evaporação em capela de exaustão, que em seguida cada amostra foi redissolvida para 1 mL de hexano para análise por CG-EM. Após obtenção dos resultados foi realizado cálculo de fator de correção da massa das amostras fatorando tudo para 1 g. As condições de análise foram descritas por Ventura et al. (2020).

1.1.10 Curva de quantificação dos compostos

A curva analítica foi construída por padronização externa para a quantificação residual dos compostos metil chavicol e linalol, constituintes majoritários do óleo essencial de *O. basilicum*. A linearidade do método foi determinada pela curva de regressão linear empregando as concentrações 542,12, 27,11, 18,07, 13,55, 10,84, 1,81, 0,05 $\mu\text{g kg}^{-1}$ para o composto metil chavicol, e 168,72, 8,44, 5,62, 4,22, 3,37, 0,56, 0,01 $\mu\text{g kg}^{-1}$ para o composto linalol. Os limites de detecção e quantificação foram avaliados em diferentes concentrações empregando a relação sinal ruído.

1.1.11 Análises histológicas

Fragmentos do primeiro e segundo arco branquial esquerdo, fígado e baço de três peixes por tempo, foram removidos e fixados em formol a 10% tamponado com fosfato de sódio monobásico e dibásico a pH 6,9. As amostras foram desidratadas em graduação progressiva de álcool, diafanizado em xilol e embebido em parafina de acordo com Steckert et al. (2018). Usando um micrótomo PAT-MR10 (The Pathologist[®], Brasil), as amostras foram seccionadas em 5 μm e coradas Hematoxilina de Harris e eosina (HH & E) de acordo com o método de Howard, (2004), montado em lâminas permanentes com Entellan[®], analisadas e fotografadas pelo DIC em microscópio de luz modelo Axio Imager A2 (Zeiss[®], Alemanha).

Além da descrição qualitativa, as alterações histológicas nas brânquias, fígado e baço foram avaliadas usando o método semiquantitativo proposto por Steckert et al. (2018), adaptado a uma escala crescente de valores médios de mudança (MVA), de acordo com o grau de gravidade das lesões, na seguinte escala: 0 (alteração ausente), 1 (alterações leves ou processo focal), 2 (alterações moderadas ou multifocal) e 3 (alterações graves ou processo difuso). Com base nesta escala, foi dado um valor médio de alteração histológica (MVA) para cada lesão sendo classificado como leve (0,1 a 1,0) moderado (1,1 a 2,0) e intenso (2,1-3,0).

1.1.12 Parâmetros farmacocinéticos

Os parâmetros farmacocinéticos do óleo essencial de *O. basilicum* nos diferentes tecidos foram calculados usando métodos não compartimentais (Storpiritis et al., 2011), de acordo com estudos que utilizaram agentes anestésicos pela via de administração do banho de imersão (Bianchini et al., 2020, 2019; Gomułka et al., 2015; Guénette et al., 2007; Zhao et al., 2017). A constante de eliminação (Kel) foi obtida a partir da inclinação da fase terminal da curva de concentração versus tempo (semi-logarítmico). A meia-vida terminal ($T_{1/2\beta}$) foi calculada usando a seguinte equação: $T_{1/2\beta} = 0,693 / Kel$. A área sob a curva do tempo 0 até o último momento de amostragem (AUC_{0-t}) foi calculada pelo método trapezoidal linear. Após obter o parâmetro AUC_{0-t} , a área sob a curva de 0 ao infinito ($AUC_{0-\infty}$) foi estimada pela seguinte equação: $AUC_{0-\infty} = AUC_{0-t} + C_{last} / Kel$. A concentração máxima (C_{max}) e o tempo máximo (T_{max}) foram obtidos diretamente da curva concentração versus tempo, gerada com as concentrações dos compostos majoritários do óleo essencial nos diferentes tecidos, utilizando o software Graph Pad Prism 6.07 (Graph Pad Software Inc.; San Diego, CA, EUA).

1.1.13 Análise estatística

Os dados foram submetidos ao teste de Shapiro-wilk e teste de Levene para verificar a homocedasticidade e variância. No ensaio I os resultados paramétricos foram analisados usando uma ANOVA-Oneway, seguida de teste de Tukey ($p < 0,05$). No ensaio II os dados não paramétricos foram analisados pelo teste de Kruskal-Wallis ($p < 0,05$) seguido do teste de Dun no software (STATISTICA 10.0).

RESULTADOS

1.1.14 Ensaio – I

Os principais compostos do óleo essencial utilizado neste estudo foram metil chavicol 66,51% e linalol 20,90% como constituintes majoritários e 12,57% foi composto por constituintes minoritários (Ventura et al., 2020). Não foi registrada mortalidade até 96 h dos procedimentos de indução anestésica com o óleo essencial de *O. basilicum*.

Os limites de detecção e quantificação de sensibilidade do método para determinar as concentrações dos compostos majoritários do óleo essencial de *O. basilicum* foi de $0,007 \mu\text{g kg}^{-1}$ e $0,023 \mu\text{g kg}^{-1}$, para o metil chavicol e de $0,006 \mu\text{g kg}^{-1}$

e 0,020 $\mu\text{g kg}^{-1}$ para o linalol, respectivamente. A maior concentração do metil chavicol e linalol no plasma foi obtida aos 2 min de indução anestésica ($p < 0,001$). Nos demais tempos de coleta a concentração do metil chavicol não diferiu estatisticamente ($p > 0,05$). O composto linalol diferiu ($p < 0,0001$) entre os tempos de 2 e 4 min de contato com anestésico, nos demais tempos de coleta (6, 8 e 10 minutos) houve uma estabilização na concentração deste composto no plasma, sem diferença estatística ($p > 0,05$) (Tabela 4).

No cérebro a maior concentração ($p < 0,0001$) do metil chavicol foi observada aos 4 min de exposição diferindo dos demais tempos. Nos tempos de 6, 8 e 10 min, houve um decréscimo na concentração deste composto com diferença estatística entre todos os tempos ($p < 0,0001$). Para o composto linalol foi observado aumento crescente da concentração nos tempos de 2 e 4 min, a maior concentração foi observada após 6 min, com decréscimo no teor deste composto nos tempos de 8 e 10 min de contato com o óleo essencial de *O. basilicum* ($p < 0,0001$) (Tabela 4).

Os níveis de metil chavicol e linalol no músculo atingiram os valores máximos com 2 minutos anestesia. Nos demais tempos houve decréscimo ($p < 0,0001$) na concentração de ambos os compostos (Tabela 4).

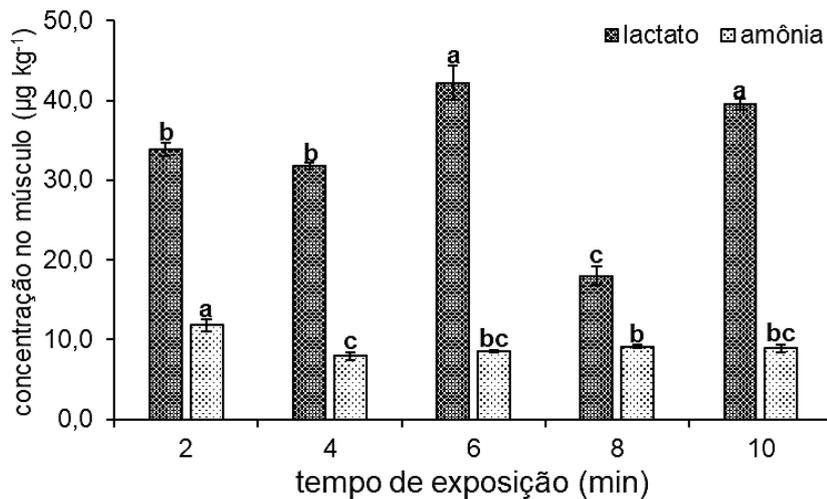
Tabela 4. Concentração dos compostos metil chavicol e linalol ($\mu\text{g kg}^{-1}$) no plasma, cérebro e músculo branco de juvenis de tambaqui *Colossoma macropomum* em diferentes tempos de indução anestésica com óleo essencial de *Ocimum basilicum*.

Tempo (min)	Tecido ($\mu\text{g kg}^{-1}$)					
	Plasma		Cérebro		Músculo	
	Metil chavicol	Linalol	Metil chavicol	Linalol	Metil chavicol	Linalol
2	35,50 \pm 0,06 ^a	10,26 \pm 0,05 ^a	13,65 \pm 0,02 ^c	1,82 \pm 0,01 ^c	7,08 \pm 0,01 ^a	2,12 \pm 0,01 ^a
4	7,21 \pm 0,01 ^b	1,11 \pm 0,01 ^b	28,68 \pm 0,00 ^a	2,71 \pm 0,00 ^b	6,67 \pm 0,00 ^b	1,57 \pm 0,01 ^b
6	6,23 \pm 0,00 ^b	0,74 \pm 0,01 ^c	21,37 \pm 0,03 ^b	3,42 \pm 0,01 ^a	6,50 \pm 0,00 ^c	1,55 \pm 0,00 ^c
8	6,23 \pm 0,00 ^b	0,72 \pm 0,01 ^c	6,32 \pm 0,00 ^d	1,24 \pm 0,01 ^d	6,27 \pm 0,00 ^d	0,99 \pm 0,00 ^d
10	6,24 \pm 0,00 ^b	0,74 \pm 0,03 ^c	6,24 \pm 0,01 ^e	1,23 \pm 0,03 ^d	6,19 \pm 0,00 ^e	0,44 \pm 0,00 ^e

Letras diferentes em uma mesma coluna indicam diferenças estatística pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

O nível do metabólito lactato no músculo branco de juvenis de tambaqui foi maior ($p < 0,0001$) aos 6 e 10 min de indução anestésica diferindo dos demais tempos de coleta. O teor de amônia no músculo foi maior ($p < 0,0001$) aos 2 min de indução anestésica diferindo significativamente dos demais tempos de coleta (Figura 4).

Figura 4. A concentração dos metabólitos lactato e amônia (mmol/g de tecido) no músculo de juvenis de tambaqui *Colossoma macropomum* após diferentes tempos de indução anestésica com óleo essencial de *Ocimum basilicum*.



Letras diferentes indicam diferença significativa entre os tempos pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

A maior concentração de lactato no plasma foi registrada aos 4 min de anestesia ($p < 0,0001$). Aos 6 e 10 min as concentrações de lactato no plasma foram semelhantes entre si, porém diferem dos demais tempos. O teor de amônia plasmática foi menor aos 10 min de indução anestésica ($p < 0,0001$), diferindo dos demais tempos de exposição avaliados. O íon cloreto foi menor aos 8 min ($p < 0,0002$) diferindo de 2, 4 e 6 min. Para o cálcio total o menor valor foi aos 10 min ($p < 0,0001$) diferindo significativamente dos demais tempos, enquanto aos 2, 6 e 8 min foram semelhantes entre si, com diferença estatística ($p < 0,0001$) do valor aos 4 min. (Tabela 5).

Tabela 5. Concentração dos parâmetros bioquímicos no sangue de juvenis de tambaqui *Colossoma macropomum* em diferentes tempos de indução anestésica com óleo essencial de *Ocimum basilicum*.

Tempo (min)	Parâmetros bioquímicos			
	Lactato (mgdL ⁻¹)	Amônia (µmols mL ⁻¹)	Cloreto (mEq L ⁻¹)	Cálcio total (mgdL ⁻¹)
2	31,34 ± 2,54 ^d	2,53 ± 0,23 ^c	126,66 ± 8,09 ^a	0,67 ± 0,01 ^a
4	54,27 ± 6,16 ^a	2,87 ± 0,27 ^{ab}	117,30 ± 31,23 ^a	0,55 ± 0,07 ^b
6	48,17 ± 3,79 ^b	2,62 ± 0,09 ^{bc}	112,58 ± 18,19 ^a	0,63 ± 0,04 ^a
8	41,32 ± 2,21 ^c	3,05 ± 0,13 ^a	86,23 ± 6,80 ^b	0,67 ± 0,06 ^a
10	47,64 ± 3,59 ^b	1,73 ± 0,12 ^d	108,23 ± 1,03 ^{ab}	0,19 ± 0,01 ^c

Letras diferentes em uma mesma coluna indicam diferenças estatística pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

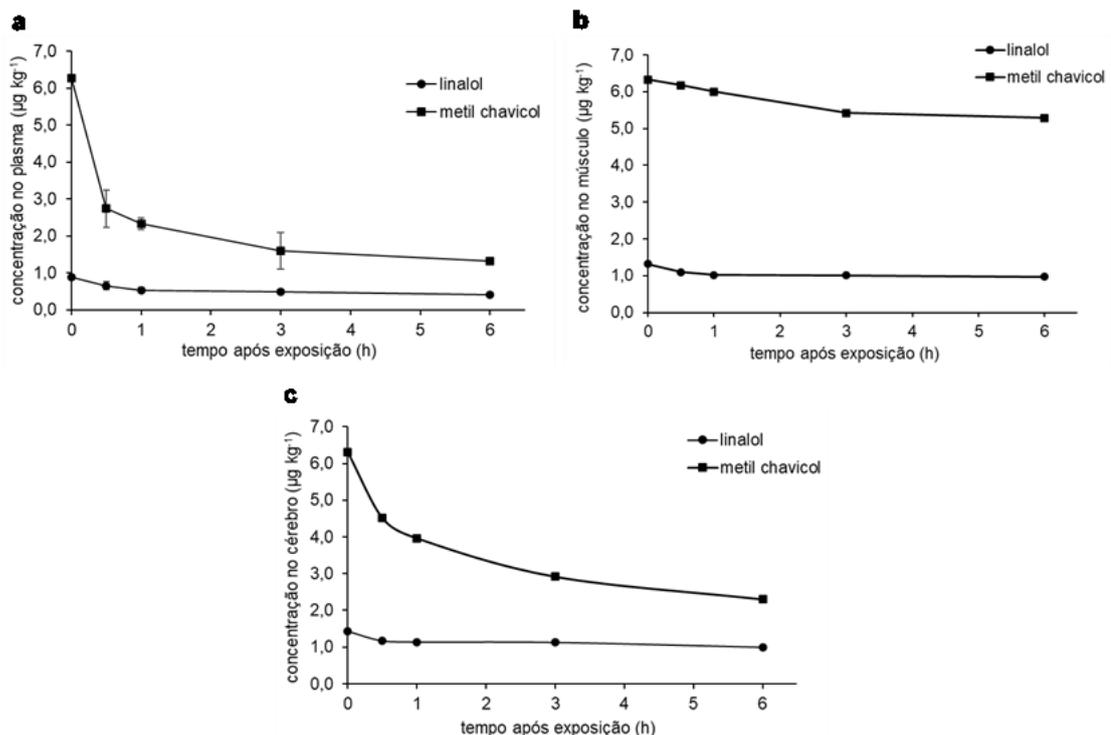
1.1.15 Ensaio – II

Após anestesia (0,0h) a concentração de metil chavicol e linalol no plasma sanguíneo foi de 6,27 e 0,89 $\mu\text{g kg}^{-1}$ respectivamente. Após 3h de depuração, houve uma redução significativa de 74,48% de metil chavicol ($p < 0,00005$) e de 44,95% de linalol ($p < 0,0008$). Após 6h a concentração de ambos os compostos se manteve estável, sendo 1,33 $\mu\text{g kg}^{-1}$ para o metil chavicol e 0,42 $\mu\text{g kg}^{-1}$ para o linalol.

A maior concentração de metil chavicol no músculo foi logo após anestesia 6,33 $\mu\text{g kg}^{-1}$, com redução de 16,42% no último tempo de coleta ($p < 0,0001$). Para o linalol foi observado o mesmo comportamento com a maior concentração logo após anestesia 1,32 $\mu\text{g kg}^{-1}$ e redução de 26,51% no tempo de 6h após anestesia ($p < 0,0002$).

No cérebro a concentração de 6,31 $\mu\text{g kg}^{-1}$ de metil chavicol logo após anestesia (0,0h), com decréscimo a 2,31 $\mu\text{g kg}^{-1}$ no último tempo de coleta 6h $p < 0,0001$). Para o linalol a maior concentração foi logo após anestesia (0,0h) com 1,43 $\mu\text{g kg}^{-1}$ diferindo dos valores de 3h ($p < 0,01$) e 6h (0,0001) após anestesia. O valor 1,00 $\mu\text{g kg}^{-1}$ foi observado no último tempo de coleta (Figura 5).

Figura 5. Concentração ($\mu\text{g kg}^{-1}$) de metil chavicol e linalol no plasma (a), músculo(b) e cérebro (c) de juvenis de tambaqui *Colossoma macropomum* após indução anestésica com óleo essencial de *Ocimum basilicum*.



Os parâmetros farmacocinéticos foram obtidos a partir de um modelo não compartimental, a concentração máxima e a meia vida ($T_{1/2\beta}$ h) de metil chavicol e linalol foram inferiores a 1h nos três tecidos plasma, músculo e cérebro, com a exceção do metil chavicol no músculo. A área sob a curva do gráfico AUC_{0-t} ($\mu\text{g g}^{-1}$ h) foi maior no cérebro do que no plasma para os compostos metil chavicol e linalol (Tabela 6).

Tabela 6. Parâmetros farmacocinéticos dos compostos metil chavicol e linalol nos diferentes tecidos de tambaqui *Colossoma macropomum* após banho de 10 min em $800 \mu\text{L L}^{-1}$ de óleo essencial de *Ocimum basilicum*.

Parâmetros Farmacocinéticos	Plasma		Músculo		Cérebro	
	Metil chavicol	Linalol	Metil chavicol	Linalol	Metil chavicol	Linalol
Tmax (h)	0,43	0,66	2,30	0,46	1,00	0,47
C max ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	6,23	0,89	6,37	1,32	2,22	1,43
$T_{1/2\beta}$ (h)	0,30	0,46	1,59	0,32	0,69	0,33
Kel (per h)	2,33	1,51	0,43	2,17	1,00	2,11
AUC_{0-t} ($\mu\text{g g}^{-1}$ h)	11,69	3,07	33,65	6,15	19,59	6,68
$AUC_{0-\infty}$ ($\mu\text{g g}^{-1}$ h)	12,22	3,35	45,82	6,60	21,89	7,16

Tmax (h) = tempo máximo; C max = concentração máxima; $T_{1/2\beta}$ = meia vida terminal; Kel = constante de eliminação; AUC_{0-t} = área sob a curva do tempo zero a 24h; $AUC_{0-\infty}$ = área sob a curva do tempo zero até o infinito.

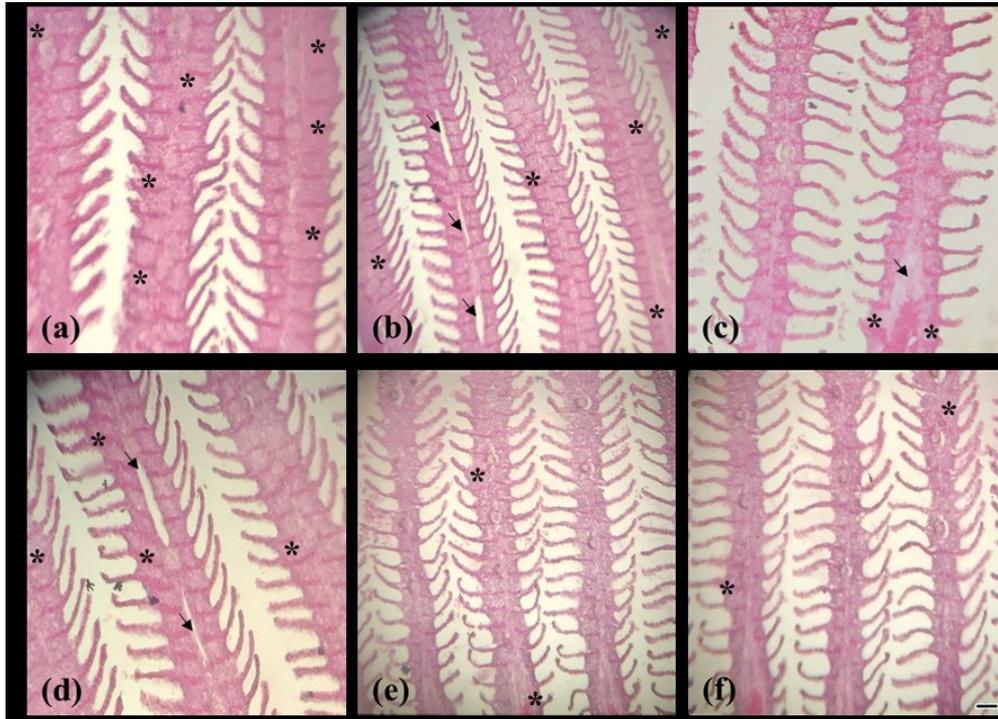
Nas análises histológicas das brânquias figura 3 (b), (e) e (f), e no valor médio de alteração foi identificada diferença significativa ($p < 0,05$) entre 0,5 e 6h para as lesões de fusão da lamela secundária e hiperplasia interlamelar. Estas lesões não se mantiveram presentes após 6 horas de recuperação anestésica (Tabela 7). No tecido hepático e esplênico não foram observadas lesões dignas de nota.

Tabela 7. Intensidade de alterações histológicas nas brânquias de juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum*) em diferentes tempos de coleta, após 10 min de indução anestésica com $800 \mu\text{L L}^{-1}$ de óleo essencial de *Ocimum basilicum*.

Lesões histológicas	Tempo após exposição (h)					Valor de p
	0	0,5	1	3	6	
Deslocamento do epitélio justalamelar	1,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00	0,9852
Edema justalamelar	0,75 ± 0,50	1,00 ± 0,00	0,50 ± 0,55	1,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00	0,0544
Dobras extremidades distais	0,25 ± 0,50	0,83 ± 0,40	0,83 ± 0,41	0,33 ± 0,52	0,00 ± 0,00	0,1142
Fusão da lamela secundária	0,75 ± 0,50 ^{ab}	1,00 ± 0,00 ^a	0,50 ± 0,55 ^{ab}	0,33 ± 0,52 ^{ab}	0,00 ± 0,00 ^b	0,0104
Hiperplasia interlamelar	1,50 ± 0,58 ^{ab}	1,67 ± 0,52 ^a	1,33 ± 0,52 ^{ab}	0,50 ± 0,84 ^{ab}	0,00 ± 0,00 ^b	0,0190
Mast cell (macrófagos)	0,50 ± 0,58	0,83 ± 0,41	0,17 ± 0,41	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,0612

Letras diferentes na mesma linha indicam diferenças estatística pelo teste de Kruskal-Wallis ($p < 0,05$) seguido do teste de Dun.

Figura 6. Alterações histológicas nas brânquias de juvenis de tambaqui *C. macropomum* após indução anestésica com óleo essencial de *O. basilicum*.



(a)-0h (*) hiperplasia interlamelar intensa, (b)-0,5h (→) deslocamento do epitélio justalamelar, (c)-1,0h (*) hiperplasia moderada na base do filamento branquial, (d)-3,0h (*) hiperplasia interlamelar moderada(→) deslocamento do epitélio justalamelar, (e) e (f)-6h hiperplasia leve. Barra = 50 μ m (f).

DISCUSSÃO

A sobrevivência é uma resposta importante, pois a mortalidade já foi registrada em peixes anestesiados. Nos estudos com óleos essenciais de manjeriçao (*O. basilicum*), tomilho (*Thymus vulgaris*), erva cidreira (*Lippia alba*) e pau rosa (*Aniba roseadora*) não foi registrada mortalidade em tambaquis (*C. macropomum*) após indução anestésica (Baldisserotto et al., 2018; Boaventura et al., 2022; Silva et al., 2019; Ventura et al., 2021). Semelhante ao registrado no presente estudo onde não foi registrada mortalidade. Embora a composição dos óleos essenciais e o teor dos compostos majoritários sejam influenciados por fatores como estação do ano, fase de desenvolvimento da planta, quimiotipo, método de extração, tipo de solo, horário de colheita, temperatura e tempo de secagem (Barbosa et al., 2012; Carvalho Filho et al., 2006; Moldão-Martins et al., 1999; Paolini et al., 2010; Tavares et al., 2005) neste estudo, o uso de óleo essencial de manjeriçao (*O. basilicum*) como anestésico foi eficiente e não causou mortalidade nos peixes.

As propriedades físico-químicas dos fármacos, como massa molecular e lipossolubilidade, são fatores que influenciam a difusão transmembrana que é o principal mecanismo para atravessar a barreira hematoencefálica (Zeiadeh et al., 2018). Após 2 min de exposição ao óleo essencial de *O. basilicum* foram quantificados os compostos majoritários metil chavicol e linalol no plasma, cérebro e músculo. Estas observações indicam rápida absorção e distribuição dos compostos na corrente sanguínea. A rápida absorção se deve às características dos compostos, no qual metil chavicol é um terpenóide lipossolúvel com baixa massa molar (148,2 g/mol) (Zeljkić et al., 2020), o que facilita seu transporte pela membrana das brânquias e barreira hematoencefálica. O linalol, é um monoterpeneo com baixa solubilidade em água (1,45 g/l a 20°C) massa molar de 154,25 g/mol (Belsito et al., 2010). Ambos os compostos tem massa molecular próximos e características semelhantes, o que levou a um comportamento semelhante na absorção e distribuição.

O aumento do lactato plasmático em peixes após práticas de manejo, ocorre quando o metabolismo aeróbico não supre a demanda energética (Barbosa et al., 2007). Em estudos anteriores Inoue et al. (2011) e Batista et al. (2018) utilizaram o composto eugenol e óleo essencial de *L. alba* na anestesia para tambaqui, mas isso não inibiu o aumento dos níveis de lactato. Estes resultados corroboram com o observado neste estudo, em que, a adição de 800 $\mu\text{l L}^{-1}$ de óleo essencial de *O. basilicum* não mitigou os níveis de lactato no plasma.

O aumento da amônia plasmática é indicador de metabolismo de proteínas alterado por mediação do cortisol, o que resulta em maior liberação desse metabólito no plasma (Inoue et al., 2011). Neste estudo os níveis de amônia plasmática variaram durante o tempo de indução anestésica, com menor concentração observada aos 10 min. Isto indica a eficiência do óleo essencial de *O. basilicum* na concentração de 800 $\mu\text{l L}^{-1}$ em manter a homeostase no animal a 27,7°C em relação a excreção de nitrogênio, que é um indicador de estresse secundário. Diferente dos estudos realizados com tambaqui (28,7°C) e pacu (25,6°C), em que a anestesia com óleo essencial de *L. alba* nas concentrações de 100 mg L^{-1} e 250 mg L^{-1} respectivamente, não inibiu o aumento da amônia plasmática (Batista et al., 2018; Ventura et al., 2019b). O teor dos compostos, a temperatura e a concentração da solução são fatores que influenciam a eficiência dos óleos essenciais como anestésicos em peixes (Baldisserotto et al., 2018). O desbalanceamento eletrolítico é um indicador de estresse, pois a manutenção da homeostase é influenciada pelo equilíbrio na

absorção e excreção dos mesmos (Gabriel et al., 2019). Neste estudo, passados 10 min de indução os valores do íon de cloreto não diferiram dos tempos iniciais. O que indica a eficiência da adição de 800 $\mu\text{L L}^{-1}$ de óleo essencial de *O. basilicum* na manutenção do íon de cloreto no plasma do peixe. Semelhante ao resultado de Santos et al. (2020), após transporte de tambaqui (*C. macropomum*) por 15h com solução mista de 10,4 mg L^{-1} de *Melaleuca alternifolia* e de composto eugenol, não houve variação significativa no íon de cloreto. A diminuição das trocas iônicas pelas brânquias em peixes em anestesia profunda, ocorre devido a redução da taxa de ventilação, menor fluxo sanguíneo e das funções nervosas (Inoue et al., 2004). Para Barbosa et al. (2007) a adição de 15 e 60 mg L^{-1} de eugenol em banho anestésico em matrinxã (*Brycon amazonicus*) por 10 min manteve o equilíbrio iônico. Neste estudo, a exposição por até 8 min manteve a homeostase deste íon; porém, um tempo maior de indução anestésica (10 min) levou a queda no teor de cálcio total, o que indica desbalanceamento.

O aumento do lactato em músculo branco é um indicador de estresse secundário, pois na tentativa de aumentar a demanda energética sua concentração é elevada (Proctor et al., 1992). Neste estudo, a concentração de lactato em músculo branco oscilou e aos 10 min de indução teve a maior concentração. Corroborando com o estudo de Zeppenfeld et al. (2014), onde a adição de 30 e 40 $\mu\text{L L}^{-1}$ mg L^{-1} de óleo essencial de *Aloysia triphylla* na água durante transporte de juvenis de jundiá (*Rhamdia quelen*) por 6h não inibiu o aumento desse metabólito. As brânquias e os rins são fundamentais na excreção de amônia do organismo dos peixes, quando esse equilíbrio é quebrado, níveis elevados de amônia no plasma e na musculatura se tornam tóxicos para o organismo (Smutná et al., 2002). O uso de 800 $\mu\text{L L}^{-1}$ de óleo essencial de *O. basilicum* não levou a aumento na concentração de amônia, o aponta para eficiência na manutenção da homeostase. No ensaio II os compostos majoritários do óleo essencial de *O. basilicum*, metil chavicol e linalol foram encontrados em níveis quantificáveis no plasma. Para ambos os compostos após 10 min de exposição a 800 $\mu\text{L L}^{-1}$ de óleo essencial de *O. basilicum* foi registrada a maior concentração, com redução de 74,4% do composto metil chavicol e 44,9% de linalol nas primeiras 3h. Comportamento este semelhante ao descrito em pacu (*Piaractus mesopotamicus*) por (Ventura et al., 2019a) com 6h de depuração, 78,7% de metil chavicol e 52,8% de linalol foram eliminados. A absorção, distribuição e eliminação rápida estão relacionadas com a temperatura da água, pois quanto maior a temperatura mais

rápidos são esses processos (Zahl et al., 2009) Este estudo é fundamental para entender a farmacocinética do óleo essencial de *O. basilicum*, em juvenis de tambaqui após anestesia. Para os compostos majoritários metil chavicol e linalol a concentração máxima foi alcançada antes de 1h, o que indica rápida absorção. Comportamento semelhante ao demonstrado por Bianchini et al. (2019) para o S-(+)-linalol que com 0,5h já havia atingido a concentração máxima. A absorção do fármaco e o percurso são influenciados por fatores como a circulação sistêmica e o método de exposição (Storpiritis et al., 2011). Em peixes a via de contato com o produto costuma ser banho de imersão, onde as brânquias são a área de contato responsáveis por absorver o fármaco, a absorção tende a ser rápida devido ao alto fluxo de sangue e facilidade de troca com o meio (Zahl et al., 2012).

Neste estudo o comportamento dos compostos (metil chavicol e linalol) no cérebro indica rápida distribuição após absorção, pois os valores de AUC_{0-t} são duas vezes maiores para o linalol e de uma vez e meia para o metil chavicol em comparação com os valores no plasma. No estudo de Bianchini et al. (2019) indução anestésica com S-(+)-linalol em jundiás (*R. quelen*) os altos níveis de AUC_{0-t} de linalol no cérebro maiores que no plasma explicam a atividade anestésica, mesmo que o mecanismo de ação anestésica ainda seja desconhecido. Embora a quantificação AUC_{0-t} dos compostos metil chavicol e linalol no cérebro seja um resultado promissor, o fato de ter sido usado o óleo essencial e não os compostos isolados não permite afirmar que a atividade anestésica é apenas do metil chavicol e linalol.

Neste estudo, para os dois compostos metil chavicol e linalol no plasma a meia vida foi inferior a 0,5h, que é uma meia vida muito curta, o que indica rápida eliminação. Resultado semelhante ao de Bianchini et al. (2019) com o uso 153,0 mg L⁻¹ de linalol extraído de óleo essencial de *L. alba*, que na anestesia de jundiá (*R. quelen*) apresentou perfil de eliminação rápido com uma meia vida de 1,36h no plasma. A meia vida- $T_{1/2\beta}$ de um fármaco é um importante indicador de eliminação do mesmo (Zanon et al., 2012). O uso de 75 mg L⁻¹ de eugenol em anestesia por 15 min a 4°C teve meia vida de 12h em truta arco-íris *O. mykiss* que é uma meia vida longa. A Meia vida no plasma de truta arco-íris de 60 e 13 min a 6 e 12°C respectivamente (Stehly et al., 1998). O conhecimento dos mecanismos de eliminação são fundamentais para determinar a eficiência de um fármaco, pois mesmo que um anestésico seja eficiente em anestesia ele pode se acumular no organismo dependendo da natureza do composto e da espécie estudada.

O estado do órgão após anestesia é um indicador importante, pois alterações histológicas como ectasia capilar dos filamentos branquiais foram observadas em brânquias de truta arco-íris anestesiada com óleo de cravo Velíšek et al. (2005). Também foi encontrado fusão lamelar, proliferação de células de cloreto, hipertrofia e hiperplasia do epitélio lamelar em tambaqui anestesiado com óleos essenciais de *A. triphylla* (22% de β -pineno e 13,1% transpino-canfona), *L. sidoides* (72% de timol) e *Mentha piperita* (33,8% de mentol e 15,2 mentona) (Brandão et al., 2021). A adição de uma solução de 10,4 mg L⁻¹ com óleo de *M. alternifolia* arvore do chá (44% terpinen-4-ol) e de óleo de cravo (98% eugenol) na água de transporte de tambaqui (*C. macropomum*) por 15 horas não evitou lesões de estágio I e II de fusão lamelar, hipertrofia e hiperplasia do epitélio lamelar (Santos et al., 2020). Semelhante a este estudo onde nas lesões histológicas avaliadas os graus das lesões foram de leves a moderadas. Além disso o uso de 800 μ L L⁻¹ de óleo essencial de *O. basilicum* não causou alteração no baço e no fígado de tambaqui, assim como no trabalho de Yigit et al. (2022) em truta arco íris anestesiados com óleo essencial de *O. basilicum* e *Eucalyptus globulus*. Esses resultados indicam que o uso do óleo essencial de *O. basilicum* é seguro.

CONCLUSÃO

Com base nos dados deste estudo é possível concluir que 800 μ L L⁻¹ do óleo essencial de *O. basilicum* foi eficiente na anestesia de *C. macropomum*, pois inibiu respostas ao estresse, não causou mortalidade e estresse adicional. A meia vida do metil chavicol e linalol foi inferior a 30 min no plasma o que sustenta a afirmação de absorção, distribuição e eliminação rápidas. Adicionalmente, as alterações histológicas inicialmente causadas foram reversíveis após 6 horas de anestesia. Os níveis de AUC_{0-t} dos compostos metil chavicol e linalol no cérebro são promissores, no entanto, mais estudos avaliando os compostos isolados são necessários para confirmar a propriedade anestésica.

REFERÊNCIAS

Antunes, M.I.P., Spurio, R.S., Godoi, D.A., Grumadas, C.E.S., Rocha, M.A. da, 2008. Benzocaine hydrochloride anesthesia in carp (*Cyprinus carpio*). Semin. Ciências Agrárias 29, 151–156.

Baldisserotto, B., 2020. Espécies nativas para piscicultura no Brasil: 3a edição revista, atualizada e ampliada. Fundação de Apoio a Tecnologia e Ciência-Editora, UFSM.

Baldisserotto, B., Barata, L.E.S., Silva, A.S., Lobato, W.F.F., Silva, L.L., Toni, C., Silva, L.V.F., 2018. Anesthesia of tambaqui *Colossoma macropomum* (Characiformes: Serrasalminidae) with the essential oils of *Aniba rosaeodora* and *Aniba parviflora* and their major compound, linalool. Neotrop. Ichthyol. 16, 170128. <https://doi.org/10.1590/1982-0224-20170128>

Barbosa, L.G., Moraes, G., Inoue, L.A.K.A., 2007. Metabolic responses of matrinxã to eugenol in anesthetic baths. Acta Sci. Biol. Sci 29, 255–266.

Barbosa, P.C.S., Medeiros, R.S., Sampaio, P.T.B., Vieira, G., Wiedemann, L.S.M., Veiga-Junior, V.F., 2012. Influence of Abiotic Factors on the Chemical Composition of Copaiba Oil (*Copaifera multijuga* Hayne): Soil Composition, Seasonality and Diameter at Breast Height. J. Braz. Chem. Soc 23, 1823–1833. <https://doi.org/https://doi.org/10.1590/S0103-50532012005000049>

Batista, E. dos S., Brandão, F.R., Majolo, C., Inoue, L.A.K.A., Maciel, P.O., Oliveira, M.R. de, Chaves, F.C.M., Chagas, E.C., 2018. *Lippia alba* essential oil as anesthetic for tambaqui. Aquaculture 495, 545–549. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.06.040>

Belsito, D., Bickers, D., Bruze, M., Calow, P., Greim, H., Hanifin, J.M., Rogers, A.E., Saurat, J.H., Sipes, I.G., Tagami, H., 2010. A safety assessment of non-cyclic alcohols with unsaturated branched chain when used as fragrance ingredients q The RIFM expert panel. Food Chem. Toxicol. 48, 1–42. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2009.11.007>

Bianchini, A.E., Garlet, Q.I., Rodrigues, P., Souza, C. de F., Silva, L. de L., Santos, A.C. dos, Heinzmann, B.M., Baldisserotto, B., 2019. Pharmacokinetics of S-(+)-linalool in silver catfish (*Rhamdia quelen*) after immersion bath: An anesthetic for aquaculture. Aquaculture 506, 302–307. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.03.044>

Bianchini, A.E., Rodrigues, P., Barbosa, L.B., Junior, G.B., Souza, C. de F., Heinzmann, B.M., Baldisserotto, B., 2020. Tissue distribution and elimination of S-(+)-linalool in silver catfish (*Rhamdia quelen*). Aquaculture 529, 735637. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735637>

Boaventura, T.P., Santos, F.A.C. dos, Souza, A. de S., Batista, F.S., Júlio, G.S.C., Luz, R.K., 2022. Thymol and linalool chemotypes of the essential oil of *Thymus vulgaris* (thyme) as anesthetic for *Colossoma macropomum*: Physiology and feed consumption. Aquaculture 554, 738161. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2022.738161>

Boyd, C.E., 1998. Water Quality for Pond Aquaculture. International Center of Aquaculture and Aquatic Environments, Alabama Agricultural Experiment Station Auburn University, 37p.

Brandão, F.R., Farias, C.F.S., Souza, D.C. de M., Oliveira, M.I.B. de, Matos, L.V. de, Majolo, C., Oliveira, M.R. de, Chaves, F.C.M., O'Sullivan, F.L. de A., Chagas, E.C., 2021. Anesthetic potential of the essential oils of *Aloysia triphylla*, *Lippia sidoides* and *Mentha piperita* for *Colossoma macropomum*. Aquaculture 534, 736275. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.736275>

- Carvalho Filho, J.L.S., Blank, A.F., Alves, P.B., Ehlert, P.A.D., Melo, A.S., Cavalcanti, S.C.H., Arrigoni-Blank, M. de F., Silva-Mann, R., 2006. Influence of the harvesting time, temperature and drying period on basil (*Ocimum basilicum* L.) essential oil. *Brazilian J. Pharmacogn.* 16, 24–30. <https://doi.org/https://doi.org/10.1590/S0102-695X2006000100007>
- Davis, K.B., Griffin, B.R., 2004. Physiological responses of hybrid striped bass under sedation by several anesthetics. *Aquaculture* 233, 531–548. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2003.09.018>
- Gabriel, U.U., Edori, O.S., Egobueze, E.C., 2019. Plasma Enzymes and Electrolytes in *Heterobranchus bidorsalis* Treated with Cypermethrin. *Biochem. Anal. Biochem.* 8, 2161–1009. <https://doi.org/10.4172/2161-1009.1000380>
- Gomułka, P., Fornal, E., Berecka, B., Szmagara, A., Ziomek, E., 2015. Pharmacokinetics of propofol in rainbow trout following bath exposure. *Pol. J. Vet. Sci.* 18, 147–152. <https://doi.org/10.1515/pjvs-2015-0019>
- Guénette, S.A., Uhlund, F.C., Hélie, P., Beaudry, F., Vachon, P., 2007. Pharmacokinetics of eugenol in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 266, 262–265. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2007.02.046>
- Harrower, J.R., Brown, C.H., 1972. Blood lactic acid -a micromethod adapted to field collection of microliter samples. *J. Appl. Physiol.* 32, 709–711. <https://doi.org/https://doi.org/10.1152/jappl.1972.32.5.709>
- Howard, D., 2004. Histological techniques for marine bivalve mollusks and crustaceans (Vol. 5). NOAA, National Ocean Service, National Centers for Coastal Ocean Service, Center for Coastal Environmental Health and Biomolecular Research, Cooperative Oxford Laboratory, 1-218.
- Hseu, J.-R., Yeh, S.-L., Chu, Y.-T., Ting, Y.-Y., 1998. Comparison of efficacy of five anesthetics in goldlined sea bream, *Sparus sarba*. *Acta Zool. Taiwanica* 9, 35–41.
- Inoue, L.A.K.A., Boijink, C.L., Ribeiro, P.T., Silva, A.M.D. da, Affonso, E.G., 2011. Evaluation of tambaqui metabolic responses to eugenol in anesthetics baths. *Acta Amaz.* 41, 327–332.
- Inoue, L.A.K.A., Hackbarth, A., Morales, G., 2004. Assessment of 2-phenoxyethanol and benzocaine as anesthetics for field procedures in matrinxã *Brycon cephalus* (Günther, 1869). *Biodiversidade Pampeana* 2, 10–15.
- Inoue, L.A.K.A., Neto, C. dos S., Moraes, G., 2003. Clove oil as anaesthetic for juveniles of matrinxã *Brycon cephalus* (Gunther, 1869). *Ciência Rural* 33, 943–947. <https://doi.org/10.1590/s0103-84782003000500023>
- Iwama, G.K., Afonso, L.O.B., Todgham, A., Ackerman, P., Nakano, K., 2004. Are hsp90 suitable for indicating stressed states in fish? *J. Exp. Biol.* 207, 15–19. <https://doi.org/10.1242/jeb.00707>
- Kaya, D.A., Ghica, M.V., Dănilă, E., Öztürk, Ş., Türkmen, M., Kaya, M.G.A., Dinu-Pîrvu, C.E., 2020. Selection of optimal operating conditions for extraction of *Myrtus Communis* L. essential oil by the steam distillation method. *Molecules* 25, 2399. <https://doi.org/10.3390/molecules25102399>

Kent, M.L., 2000. Marine netpen farming leads to infections with some unusual parasites. *Int. J. Parasitol.* 30, 321–326.

Lima, C.A.S., Bussons, M.R.F.M., Oliveira, A.T. de, Aride, P.H.R., O'Sullivan, F.L. de A., Pantoja-Lima, J., 2020. Socioeconomic and profitability analysis of tambaqui *Colossoma macropomum* fish farming in the state of Amazonas, Brazil. *Aquac. Econ. Manag.* 24, 406–421. <https://doi.org/10.1080/13657305.2020.1765895>

Moldão-Martins, M., Bernardo-Gil, M.G., Costa, M.L.B. da, Rouzet, M., 1999. Seasonal variation in yield and composition of *Thymus zygis* L. subsp. *sylvestris* essential oil. *Flavour Fragr. J.* 14, 177–182. [https://doi.org/https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1099-1026\(199905/06\)14:3<177:AID-FFJ806>3.0.CO;2-B](https://doi.org/https://doi.org/10.1002/(SICI)1099-1026(199905/06)14:3<177:AID-FFJ806>3.0.CO;2-B)

Paolini, J., Barboni, T., Desjobert, J.-M., Djabou, N., Muselli, A., Costa, J., 2010. Chemical composition, intraspecies variation and seasonal variation in essential oils of *Calendula arvensis* L. *Biochem. Syst. Ecol.* 38, 865–874. <https://doi.org/10.1016/j.bse.2010.07.009>

Pereira, R.A., Saczk, A.A., Okamura, D., Cardoso, M. das G., Costa, L.S., Santiago, W.D., Souza, T.M., Lima, R.M.F. de, Rosa, P.V. e, 2014. Quantification of residual clove oil, benzocaine and tricaine in fish fillets using SPE and UPLC-DAD. *J. Adv. Chem.* 10, 2661–2668.

Priborsky, J., Velisek, J., 2018. A Review of Three Commonly Used Fish Anesthetics. *Rev. Fish. Sci. Aquac.* 26, 417–442. <https://doi.org/10.1080/23308249.2018.1442812>

Proctor, M.R.M., Dorgan, M., McLoughlin, J. V., 1992. The Concentrations of Adenosine Triphosphate, Creatine Phosphate, Glucose-6-Phosphate, Lactate and Glycogen in Skeletal Muscle of Marine and Freshwater Fish Species Anaesthetised with MS-222. *Proc. R. Ir. Acad. B.* 92, 45–51.

Santos, A.C. dos, Cunha, M.A. da, 2021. International legislation on drugs and biological products used in the sanitary management of aquatic animals, *Aquaculture Pharmacology*. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-821339-1.00011-8>

Santos, E.L.R., Rezende, F.P., Moron, S.E., 2020. Stress related physiological and histological responses of tambaqui (*Colossoma macropomum*) to transportation in water with tea tree and clove essential oil anesthetics. *Aquaculture* 523, 735164. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture>

Shakeri, M., Sadeghpour, A., Khara, H., 2016. Anesthetic effect of xylazine and benzocaine on hematological parameters and stress indicators of juvenile grass carp, *Ctenopharyngodon idella* (Valenciennes, 1844). *Comp. Clin. Path.* 25, 357–362. <https://doi.org/10.1007/s00580-015-2191-z>

Silva, E. da, Deschamps, G.T., Matter, F. de L., Bertoldi, F.C., Aldegunde, M., Silva, D.F. da, Lopes, C., Jatobá, A., Weber, R.A., 2021. The anaesthetic efficacy of *Eucalyptus globulus* essential oil on silver catfish (*Rhamdia quelen*). *Aquac. Res.* 52, 5190–5197. <https://doi.org/10.1111/are.15388>

Silva, H.N.P. da, Carvalho, B.C.F. de, Maia, J.L.D.S., Becker, A.G., Baldisserotto, B., Heinzmann, B.M., Mourão, R.H.V., Silva, L.V.F. da, 2019. Anesthetic potential of the essential oils of *Lippia alba* and *Lippia origanoides* in Tambaqui juveniles. *Cienc. Rural*

49, 20181059. <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20181059>

Small, B.C., 2004. Effect of isoeugenol sedation on plasma cortisol, glucose, and lactate dynamics in channel catfish *Ictalurus punctatus* exposed to three stressors. *Aquaculture* 238, 469–481. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2004.05.021>

Smutná, M., Vorlová, L., Svobodová, Z., 2002. Pathobiochemistry of Ammonia in the Internal Environment of Fish (Review). *Acta Vet. Brno* 71, 169–181. <https://doi.org/https://doi.org/10.2754/avb200271020169>

Steckert, L.D., Cardoso, L., Jerônimo, G.T., Pádua, S.B. de, Martins, M.L., 2018. Investigation of farmed Nile tilapia health through histopathology. *Aquaculture* 486, 161–169. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.12.021>

Stehly, G.R., Meinertz, J.R., Gingerich, W.H., 1998. Effect of temperature on the pharmacokinetics of benzocaine in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) after bath exposures. *J. vet. Pharmacol. Ther.* 21, 121–127. <https://doi.org/https://doi.org/10.1046/j.1365-2885.1998.00109.x>

Storpirtis, S., Gai, M.N., Campos, D.R. de, Gonçalves, J.E., 2011. Farmacocinética básica e aplicada. In *Farmacocinética básica e aplicada*. 1-222.

Tavares, E.S., Julião, L.S., Lopes, D., Bizzo, H.R., Lage, C.L.S., Leitão, S.G., 2005. Analysis of the essential oil from leaves of three *Lippia alba* (Mill.) N. E. Br. (Verbenaceae) chemotypes cultivated on the same conditions. *Brazilian J. Pharmacogn.* 15, 1–5. <https://doi.org/https://doi.org/10.1590/S0102-695X2005000100002>

Velíšek, J., Svobodová, Z., Piačková, V., 2005. Effects of Clove Oil Anaesthesia on Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Acta Vet. Brno* 74, 139–146. <https://doi.org/https://doi.org/10.2754/avb200574010139>

Ventura, A.S., Jerônimo, G.T., Filho, R.A.C.C., Souza, A.I., Gonçalves, L.U., Povh, J.A., 2021. *Ocimum basilicum* essential oil as an anesthetic for tambaqui *Colossoma macropomum*: Hematological, biochemical, non-specific immune parameters and energy metabolism. *Aquaculture* 533, 736124. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.736124>

Ventura, A.S., Jerônimo, G.T., Oliveira, S.N. de, Gabriel, A.M. de A., Cardoso, C.A.L., Teodoro, G.C., Filho, R.A.C.C., Povh, J.A., 2020. Natural anesthetics in the transport of Nile tilapia: Hematological and biochemical responses and residual concentration in the fillet. *Aquaculture* 526, 735365. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735365>

Ventura, A.S., Silva, T.S. de C., Zanon, R.B., Inoue, L.A.K.A., Cardoso, C.A.L., 2019a. Physiological and pharmacokinetic responses in neotropical *Piaractus mesopotamicus* to the essential oil from *Lippia sidoides* (Verbenaceae) as an anesthetic. *Int. Aquat. Res.* 11, 1–12. <https://doi.org/10.1007/s40071-019-0215-z>

Ventura, A.S., Silva, T.S.D.C., Zanon, R.B., Inoue, L.A.K.A., Cardoso, C.A.L., 2019b. Pharmacokinetic and physiological responses of *Piaractus mesopotamicus* anesthetized with the essential oil of *Lippia alba*. *Panam. J. Aquat. Sci.* 14, 51–60.

Verdouw, H., Van Echteld, C.J.A., Dekkers, E.M.J., 1978. Ammonia determinations

based on indophenol formation with sodium salicylate. *Water Res.* 12, 399–402.
[https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0043-1354\(78\)90107-0](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0043-1354(78)90107-0)

Wise, A.L., LaFrentz, B.R., Kelly, A.M., Khoo, L.H., Xu, T., Liles, M.R., Bruce, T.J., 2021. A review of bacterial co-infections in farmed catfish: Components, diagnostics, and treatment directions. *Animals*. <https://doi.org/10.3390/ani11113240>

Yigit, N.O., Metin, S., Sabuncu, O.F., Didinen, B.I., Didinen, H., Ozmen, O., Koskan, O., 2022. Efficiency of *Ocimum basilicum* and *Eucalyptus globulus* essential oils on anesthesia and histopathology of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *J. World Aquac. Soc.* 53, 1051–1061. <https://doi.org/10.1111/jwas.12911>

Zahl, I.H., Kiessling, A., Samuelsen, O.B., Hansen, M.K., 2009. Anaesthesia of Atlantic cod (*Gadus morhua*) — Effect of pre-anaesthetic sedation, and importance of body weight, temperature and stress. *Aquaculture* 295, 52–59.
<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2009.06.019>

Zahl, I.H., Samuelsen, O., Kiessling, A., 2012. Anaesthesia of farmed fish: Implications for welfare. *Fish Physiol. Biochem.* 38, 201–218. <https://doi.org/10.1007/s10695-011-9565-1>

Zanon, R.B., Cerozi, B.S., Silva, T.S.C., Cyrino, J.E.P., 2012. Pharmacokinetic of levamisole in speckled surubim *Pseudoplatystoma corruscans*. *Vet. Pharmacol. and Ther.* 36, 1–4. <https://doi.org/10.1111/jvp.12002>

Zeiadeh, I., Najjar, A., Karaman, R., 2018. Strategies for Enhancing the Permeation of CNS-Active Drugs through the Blood-Brain Barrier : A Review. *Molecules* 23, 1289.
<https://doi.org/10.3390/molecules23061289>

Zeljšković, S.Ć., Komzáková, K., Šišková, J., Karalija, E., Smékalová, K., Tarkowski, P., 2020. Industrial Crops & Products Phytochemical variability of selected basil genotypes. *Ind. Crops Prod.* 157, 112910.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112910>

Zeppenfeld, C.C., Brasil, M.T. de B., Cavalcante, G., Silva, L.V.F. da, Mourão, R.H., Cunha, M.A. da, Baldisserotto, B., 2019. Anesthetic induction of juveniles of *Rhamdia quelen* and *Ctenopharyngodon idella* with *Ocimum micranthum* essential oil. *Cienc. Rural* 49, 20180218. <https://doi.org/10.1590/0103-8478CR20180218>

Zeppenfeld, C.C., Toni, C., Becker, A.G., Miron, D. dos S., Parodi, T.V., Heinzmann, B.M., Barcellos, L.J.G., Koakoski, G., Rosa, J.G.S. da, Loro, V.L., Cunha, M.A. da, Baldisserotto, B., 2014. Physiological and biochemical responses of silver catfish, *Rhamdia quelen*, after transport in water with essential oil of *Aloysia triphylla* (L'Herit) Britton. *Aquaculture* 418–419, 101–107.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.10.013>

Zhao, D.H., Ke, C.L., Liu, Q., Wang, X.F., Wang, Q., Li, L.D., 2017. Elimination kinetics of eugenol in grass carp in a simulated transportation setting. *BMC Vet. Res.* 13, 1–6.
<https://doi.org/10.1186/s12917-017-1273-3>

REFERÊNCIAS DA INTRODUÇÃO

- ANANIAS, I. DE M. C. et al. Menthol as anesthetic for juvenile *Lophiosilurus alexandri*: Induction and recovery time, ventilatory frequency, hematology and blood biochemistry. **Aquaculture**, v. 546, p. 737373, 2022.
- ANTUNES, M. I. P. et al. Benzocaine hydrochloride anesthesia in carp (*Cyprinus carpio*). **Semina: Ciências Agrárias**, v. 29, n. 1, p. 151–156, 2008.
- ARAÚJO, F. C. T. DE et al. Could serum glucose be a selection criterion in Nile tilapia breeding programs? **Aquaculture**, v. 548, p. 737573, 2022.
- AYDIN, B. et al. Anesthetic efficacy of clove oil and 2-phenoxyethanol on doctor fish, *Garra rufa* (Heckel, 1843). **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 45, n. 4, p. 506, 2019.
- AYDIN, B.; BARBAS, L. A. L. Sedative and anesthetic properties of essential oils and their active compounds in fish: A review. **Aquaculture**, v. 520, p. 734999, 2020.
- BABA, E. et al. Evaluation of *Citrus limon* peels essential oil on growth performance, immune response of Mozambique tilapia *Oreochromis mossambicus* challenged with *Edwardsiella tarda*. **Aquaculture**, v. 465, p. 13–18, 2016.
- BAO, J. W. et al. Responses of blood biochemistry, fatty acid composition and expression of microRNAs to heat stress in genetically improved farmed tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Journal of Thermal Biology**, v. 73, n. 9, p. 91–97, 2018.
- BARBAS, L. A. L. et al. Properties of two plant extractives as anaesthetics and antioxidants for juvenile tambaqui *Colossoma macropomum*. **Aquaculture**, v. 469, p. 79–87, 2017.
- BARBAS, L. A. L. et al. Stress relieving potential of two plant-based sedatives in the transport of juvenile tambaqui *Colossoma macropomum*. **Aquaculture**, v. 520, p. 734681, 2020.
- BARTON, B. A. Stress in fishes: A diversity of responses with particular reference to changes in circulating corticosteroids. **Integrative and Comparative Biology**, v. 42, n. 3, p. 517–525, 2002.
- BIANCHINI, A. E. et al. Pharmacokinetics of S-(+)-linalool in silver catfish (*Rhamdia quelen*) after immersion bath: An anesthetic for aquaculture. **Aquaculture**, v. 506, p. 302–307, 2019.
- BIRCAN-YILDIRIM, Y. et al. The anaesthetic effects of quinaldine sulphate, Muscle relaxant diazepam and their combination on convict cichlid, *Cichlasoma nigrofasciatum* (Günther, 1867) Juveniles. **Journal of Animal and Veterinary Advances**, v. 9, n. 3, p. 547–550, 2010.
- BITTENCOURT, F. et al. Water quality and survival rate of *Rhamdia quelen* fry subjected to simulated transportation at different stock densities and temperatures. **Acta Scientiarum - Animal Sciences**, v. 40, p. 1–8, 2018.
- BRUM, A. et al. Effect of dietary essential oils of clove basil and ginger on Nile tilapia

(*Oreochromis niloticus*) following challenge with *Streptococcus agalactiae*. **Aquaculture**, v. 468, p. 235–243, 2017.

CADONIC, I. G.; IKERT, H.; CRAIG, P. M. Acute air exposure modulates the microRNA abundance in stress responsive tissues and circulating extracellular vesicles in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Comparative Biochemistry and Physiology Part D: Genomics and Proteomics**, v. 34, p. 100661, 2020.

CHEN, C. Z. et al. Response of growth performance, serum biochemical parameters, antioxidant capacity, and digestive enzyme activity to different feeding strategies in common carp (*Cyprinus carpio*) under high-temperature stress. **Aquaculture**, v. 548, n. 737636, 2022.

CHUNG, S. et al. Essential oil from *Ocimum basilicum* improves growth performance and does not alter biochemical variables related to stress in pirarucu (*Arapaima gigas*). **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 92, p. 1–11, 2020.

COSTA, J. DA S. et al. The use of *Myrcia sylvatica* hydrolate (G.MEY.) DC. (Myrtaceae) as a sedative under simulated conditions of transport of juvenile tambaqui (*Colossoma macropomum*). **Journal of Applied Aquaculture**, v. 33, n. 4, p. 360–372, 2021.

CRUZ, E. M. V.; JIMENEZ, E. B. T.; APONGOL-RUIZ, B. M. Does the Behavioral Stress Response of Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus* Breeders During Isolation Influence Seed Production? **The Philippine Journal of Fisheries**, v. 27, n. 2, p. 208–215, 2020.

DILER, O. et al. Effect of oregano (*Origanum onites* L.) essential oil on growth, lysozyme and antioxidant activity and resistance against *Lactococcus garvieae* in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). **Aquaculture Nutrition**, v. 23, n. 4, p. 844–851, 2017.

EL-LEITHY, A. A. A. et al. Optimum salinity for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) growth and mRNA transcripts of ion-regulation, inflammatory, stress- and immune-related genes. **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 45, n. 4, p. 1217–1232, 2019.

FAO. Sustainability in action. **The State of World Fisheries and Aquaculture, 2020**.

FAO. Towards Blue Transformation. **World Fisheries and Aquaculture, 2022**.

FATIMA, S. et al. Analysis of the growth performance, stress, profile of fatty acids and amino acids and cortisol in Tilapia (*Oreochromis niloticus*), cultured at high stocking density using in-pond raceway system. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 28, n. 12, p. 7422–7431, 2021.

FAVERO, G. C. et al. Eugenol or salt to mitigate stress during the transport of juvenile *Lophiosilurus alexandri*, a Neotropical carnivorous freshwater catfish. **Aquaculture**, v. 512, p. 734321, 2019.

FÉLIX, L. et al. MS-222 and propofol sedation during and after the simulated transport of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Biology**, v. 10, n. 12, p. 1–21, 2021.

- FERREIRA, A. L. et al. Efficacy of *Hesperozygis ringens* essential oil as an anesthetic and for sedation of juvenile tambaqui (*Colossoma macropomum*) during simulated transport. **Aquaculture International**, v. 30, n. 3, p. 1549–1561, 2022.
- FIGUEIREDO-FERNANDES, A. et al. Effects of gender and temperature on oxidative stress enzymes in Nile tilapia *Oreochromis niloticus* exposed to paraquat. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 85, n. 2, p. 97–103, 2006.
- FRANCO-MARTINEZ, L. et al. Skin Mucus as a Relevant Low-Invasive Biological Matrix for the Measurement of an Acute Stress Response in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Water (Switzerland)**, v. 14, n. 11, 2022.
- GENNOTTE, V. et al. Cortisol is responsible for positive and negative effects in the ovarian maturation induced by the exposure to acute stressors in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 38, n. 6, p. 1619–1626, 2012.
- GESTO, M. et al. Early performance, stress- and disease-sensitivity in rainbow trout fry (*Oncorhynchus mykiss*) after total dietary replacement of fish oil with rapeseed oil. Effects of EPA and DHA supplementation. **Aquaculture**, v. 536, p. 736446, 2021.
- GOMES, L. C. et al. Efficacy of Benzocaine as an Anesthetic in Juvenile Tambaqui *Colossoma macropomum*. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 32, n. 4, p. 426–431, 2001.
- GOMUŁKA, P. et al. Pharmacokinetics of propofol in rainbow trout following bath exposure. **Polish Journal of Veterinary Sciences**, v. 18, n. 1, p. 147–152, 2015.
- GUÉNETTE, S. A. et al. Pharmacokinetics of eugenol in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, v. 266, n. 1–4, p. 262–265, 2007.
- HOHLENWERGER, J. C. et al. Could the essential oil of *Lippia alba* provide a readily available and cost-effective anaesthetic for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*)? **Marine and Freshwater Behaviour and Physiology**, v. 49, n. 2, p. 119–126, 2016.
- HOSEINI, S. M. et al. Dietary glycine supplementation alleviates transportation-induced stress in common carp, *Cyprinus carpio*. **Aquaculture**, v. 551, p. 737959, 2022.
- HSEU, J.-R. et al. Comparison of efficacy of five anesthetics in goldlined sea bream, *Sparus sarba*. **Acta Zoologica Taiwanica**, v. 9, n. 1, p. 35–41, 1998.
- ISHIBASHI, Y. et al. Stress response and energy metabolism in various tissues of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* exposed to hypoxic conditions. **Fisheries Science**, v. 68, n. 6, p. 1374–1383, 2002.
- IWAMA, G. K. et al. Are hsp90s suitable for indicating stressed states in fish? **Journal of Experimental Biology**, v. 207, n. 1, p. 15–19, 2004.
- JIA, R. et al. Effects of Stocking Density on the Growth Performance, Physiological Parameters, Redox Status and Lipid Metabolism of *Micropterus salmoides* in Integrated Rice–Fish Farming Systems. **Antioxidants**, v. 11, n. 7, 2022.

- KAYA, D. A. et al. Selection of optimal operating conditions for extraction of *Myrtus Communis* L. essential oil by the steam distillation method. **Molecules**, v. 25, n. 10, p. 2399, 2020.
- KEENE, J. L. et al. The efficacy of clove oil as an anaesthetic for rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). **Aquaculture Research**, v. 29, n. 2, p. 89–101, 1998.
- KHANSARI, A. R. et al. Comparative immune- and stress-related transcript response induced by air exposure and *Vibrio anguillarum* bacterin in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and gilthead seabream (*Sparus aurata*) mucosal surfaces. **Frontiers in Immunology**, v. 9, p. 856, 2018.
- KIESSLING, A. et al. Pharmacokinetics, plasma cortisol and effectiveness of benzocaine, MS-222 and isoeugenol measured in individual dorsal aorta-cannulated Atlantic salmon (*Salmo salar*) following bath administration. **Aquaculture**, v. 286, n. 3–4, p. 301–308, 2009.
- KORD, M. I. et al. Impacts of water additives on water quality, production efficiency, intestinal morphology, gut microbiota, and immunological responses of Nile tilapia fingerlings under a zero-water-exchange system. **Aquaculture**, v. 547, p. 737503, 2022.
- KUBITZA, F.; ONO, E. A. A percepção de qualidade dos produtos de pescado. **Revista Panorama da Aquicultura**, v. 15, n. 87, p. 1–8, 2005.
- LIM, C. H. et al. Chronic Social Defeat Stress Up-Regulates Spexin in the Brain of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, p. 1–8, 2020.
- LIU, Y. et al. Effects of tricaine methanesulfonate (MS-222) on sedation and responses of yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*) subjected to simulated transportation stress. **Aquaculture**, v. 549, p. 737789, 2022.
- MAGOUZ, F. I. et al. Dietary menthol essential oil enhanced the growth performance, digestive enzyme activity, immune-related genes, and resistance against acute ammonia exposure in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Aquaculture**, v. 530, p. 735944, 2021.
- MAGOUZ, F. I. et al. The effects of dietary oregano essential oil on the growth performance, intestinal health, immune, and antioxidative responses of Nile tilapia under acute heat stress. **Aquaculture**, v. 548, p. 737632, 2022.
- MAHMOUD, S. et al. Deleterious impacts of heat stress on steroidogenesis markers, immunity status and ovarian tissue of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Journal of Thermal Biology**, v. 91, p. 102578, 2020.
- MANLICLIC, A. D. C.; CORPUZ, M. N. C.; VERA CRUZ, E. M. Optimum conditioning period before packing, salt-treated water, and blue background color improved the survival of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) fingerlings during transport. **Philippine Agricultural Scientist**, v. 101, n. 1, p. 76–83, 2018.
- MANLICLIC, A. D. C.; CRUZ, E. M. V. Seed Production of Nile Tilapia (*Oreochromis*

niloticus L.) as Affected by the Breeders' Stress-Coping Style. **International Journal of Agricultural Technology**, v. 13, n. 1, p. 991–1003, 2017.

MANSOUR, A. T. et al. Aquatic Plants and Aquatic Animals in the Context of Sustainability: Cultivation Techniques, Integration, and Blue Revolution. **Sustainability**, v. 14, n. 6, p. 3257, 2022.

MARTINS, C. I. M. et al. The effect of tryptophan supplemented diets on brain serotonergic activity and plasma cortisol under undisturbed and stressed conditions in grouped-housed Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. **Aquaculture**, v. 400–401, p. 129–134, 2013.

MERLINI, L. S. et al. Effects of a homeopathic complex on the performance and cortisol levels in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Homeopathy**, v. 103, n. 2, p. 139–142, 2014.

NAVARRO, R. D. et al. Physiological and hematological responses of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) to different anesthetics during simulated transport conditions. **Acta Scientiarum - Technology**, v. 38, n. 3, p. 301–306, 2016.

NEGM, S. S. et al. The efficiency of dietary *Sargassum aquifolium* on the performance, innate immune responses, antioxidant activity, and intestinal microbiota of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) raised at high stocking density. **Journal of Applied Phycology**, v. 33, n. 6, p. 4067–4082, 2021.

NEVES, L. DO C. et al. Physiological responses of juvenile *Colossoma macropomum* after different periods of air exposure. **Aquaculture**, v. 548, p. 737583, 2022.

OBA, E. T.; MARIANO, W. DOS S.; SANTOS, L. R. B. Estresse em peixes cultivados: agravantes e atenuantes para o manejo rentável. In: **Manejo e Sanidade de Peixes em Cultivo**. Macpá: Embrapa Amapá, 2009. p. 226–247.

OLIVA-TELES, A. Nutrition and health of aquaculture fish. **Journal of Fish Diseases**, v. 35, n. 2, p. 83–108, 2012.

OLIVEIRA, E. G. DE et al. Produção de tilápia: Mercado, espécie, biologia e recria. In: **Circular Técnica 45**. Teresina: Embrapa Meio-Norte, 2007. p. 1–12.

PURBOSARI, N. et al. Natural versus synthetic anesthetic for transport of live fish: A review. **Aquaculture and Fisheries**, v. 4, n. 4, p. 129–133, 2019.

QIANG, J. et al. The expression profiles of miRNA-mRNA of early response in genetically improved farmed tilapia (*Oreochromis niloticus*) liver by acute heat stress. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 1–15, 2017.

QIANG, J. et al. Physiological response and microRNA expression profiles in head kidney of genetically improved farmed tilapia (GIFT, *Oreochromis niloticus*) exposed to acute cold stress. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 1–15, 2018.

REN, Y. et al. Effects of transportation stress on antioxidation, immunity capacity and hypoxia tolerance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture Reports**, v. 22, p. 100940, 2022.

- RESKETI, M. A.; YEGANEH, S.; KHALILI, K. J. Dietary sour lemon (*Citrus limon*) peel essential oil supplementation for reduction of deltamethrin-induced stress in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 52, n. 1, p. 105–123, 2021.
- RIBEIRO, P. A. P. et al. Eugenol and benzocaine as anesthetics for *Lophiosilurus alexandri* juvenile, a freshwater carnivorous catfish. **Aquaculture International**, v. 27, n. 1, p. 313–321, 2019.
- RUIZ-JARABO, I. et al. Tambaqui (*Colossoma macropomum*) acclimated to different tropical waters from the Amazon basin shows specific acute-stress responses. **Comparative Biochemistry and Physiology -Part A : Molecular and Integrative Physiology**, v. 245, p. 110706, 2020.
- SANTOS, E. L. R.; REZENDE, F. P.; MORON, S. E. Stress related physiological and histological responses of tambaqui (*Colossoma macropomum*) to transportation in water with tea tree and clove essential oil anesthetics. **Aquaculture**, v. 523, p. 735164, 2020.
- SANTOS, F. A. C. et al. Growth performance and physiological parameters of *Colossoma macropomum* in a recirculating aquaculture system (RAS): Importance of stocking density and classification. **Aquaculture**, v. 534, p. 736274, 2021.
- SENA, A. C. et al. Essential oil from *Lippia alba* has anaesthetic activity and is effective in reducing handling and transport stress in tambacu (*Piaractus mesopotamicus* × *Colossoma macropomum*). **Aquaculture**, v. 465, p. 374–379, 2016.
- SHERIF, A. H. et al. The protective role of iodine and MS-222 against stress response and bacterial infections during Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) transportation. **Aquaculture International**, v. 31, n. 1, p. 401–416, 2022.
- SHOURBELA, R. M. et al. Oregano essential oil enhanced the growth performance , immunity , and antioxidative status of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) reared under intensive systems. **Aquaculture**, v. 542, p. 736868, 2021.
- SILVA, E. DA et al. The anaesthetic efficacy of *Eucalyptus globulus* essential oil on silver catfish (*Rhamdia quelen*). **Aquaculture Research**, v. 52, n. 11, p. 5190–5197, 2021a.
- SILVA, H. N. P. DA et al. *Lippia alba* (Verbenaceae) hydrolate as sedative of tambaqui (*Colossoma macropomum*) juveniles in simulated transport conditions. **Aquaculture Reports**, v. 49, p. 1–7, 2017.
- SILVA, H. N. P. DA et al. Sedative and anesthetic potential of the essential oil and hydrolate from the fruit of *Protium heptaphyllum* and their isolated compounds in *Colossoma macropomum* juveniles. **Aquaculture**, v. 529, p. 735629, 2020a.
- SILVA, H. N. P. DA et al. Citral chemotype of the *Lippia alba* essential oil as an additive in simulated transport with different loading densities of tambaqui juveniles. **Ciência Rural**, v. 50, n. 4, p. 20190815, 2020b.

- SILVA, R. D. DA et al. Parâmetros hematológicos e bioquímicos da tilápia-do-nylo (*Oreochromis niloticus* L.) sob estresse por exposição ao ar. **Pesquisa Veterinaria Brasileira**, v. 32, n. 1, p. 99–107, 2012.
- SILVA, L. D. L. et al. Anesthetic activity of the essential oil of *Ocimum americanum* in *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard, 1824) and its effects on stress parameters. **Neotropical Ichthyology**, v. 13, n. 4, p. 715–722, 2015a.
- SILVA, L. L. et al. Effects of anesthesia with the essential oil of *Ocimum gratissimum* L. in parameters of fish stress. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 17, n. 2, p. 215–223, 2015b.
- SILVA, L. T. DE S. et al. Hemato-immunological and zootechnical parameters of Nile tilapia fed essential oil of *Mentha piperita* after challenge with *Streptococcus agalactiae*. **Aquaculture**, v. 506, p. 205–211, 2019.
- SILVA, W. DE S. E et al. Effects of stocking density on survival, growth and stress resistance of juvenile tambaqui (*Colossoma macropomum*) reared in a recirculating aquaculture system (RAS). **Aquaculture International**, v. 29, n. 2, p. 609–621, 2021b.
- SIQUEIRA, T. V. Aquaculture: the new frontier for sustainable food production. **R. Bndes**, v. 25, n. 49, p. 119–170, 2018.
- SMALL, B. C. Anesthetic efficacy of metomidate and comparison of plasma cortisol responses to tricaine methanesulfonate, quinaldine and clove oil anesthetized channel catfish *Ictalurus punctatus*. **Aquaculture**, v. 218, n. 1–4, p. 177–185, 2003.
- SOUZA, C. D. F. et al. Citral and linalool chemotypes of *Lippia alba* essential oil as anesthetics for fish: a detailed physiological analysis of side effects during anesthetic recovery in silver catfish (*Rhamdia quelen*). **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 44, n. 1, p. 21–34, 2017.
- SOUZA, R. L. M. et al. Eugenol como anestésico no manejo de ariacó, *Lutjanus synagris* (Linnaeus, 1758), cultivado. **Revista Ciência Agronômica**, v. 46, n. 3, p. 532–538, 2015.
- SUTTHI, N.; DOAN, H. VAN. *Saccharomyces crevices* and *Bacillus* spp. effectively enhance health tolerance of Nile tilapia under transportation stress. **Aquaculture**, v. 528, p. 735527, 2020.
- TACCHI, L. et al. Effects of transportation stress and addition of salt to transport water on the skin mucosal homeostasis of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, v. 435, p. 120–127, 2015.
- TAGO, A. et al. Pharmacokinetics of Eugenol in Japanese Flounder, *Paralichthys olivaceus*. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 49, n. 4, p. 780–787, 2018.
- TEIXEIRA, R. R. et al. Essential oil of *Aloysia triphylla* in Nile tilapia: anaesthesia, stress parameters and sensory evaluation of fillets. **Aquaculture Research**, v. 48, n. 7, p. 3383–3392, 2017.

TEIXEIRA, R. R. et al. Essential oil of *Aloysia triphylla* is effective in Nile tilapia transport. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 44, n. 1, p. 17–24, 2018.

URBINATI, E. C.; CARNEIRO, P. C. F. Práticas de manejo e estresse dos peixes em piscicultura intensiva. In: CYRINO, J. E. . et al. (Eds.). **Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva**. São Paulo: TecArt, 2004. p. 171–194.

VENTURA, A. S. et al. Physiological and pharmacokinetic responses in neotropical *Piaractus mesopotamicus* to the essential oil from *Lippia sidoides* (Verbenaceae) as an anesthetic. **International Aquatic Research**, v. 11, n. 1, p. 1–12, 2019a.

VENTURA, A. S. et al. Pharmacokinetic and physiological responses of *Piaractus mesopotamicus* anesthetized with the essential oil of *Lippia alba*. **Pan-American Journal of Aquatic of Sciences**, v. 14, n. 1, p. 51–60, 2019b.

VENTURA, A. S. et al. Essential oil of *Ocimum basilicum* and eugenol as sedatives for Nile tilapia. **Journal of Agricultural Studies**, v. 8, n. 2, p. 657–665, 2020.

WENDELAAR BONGA, S. E. The stress response in fish. **Physiological Reviews**, v. 77, n. 3, p. 591–625, 1997.

WOSNICK, N. et al. Benzocaine-induced stress in the euryhaline teleost, *Centropomus parallelus* and its implications for anesthesia protocols. **Comparative Biochemistry and Physiology -Part A: Molecular and Integrative Physiology**, v. 226, p. 32–37, 2018.

YARAHMADI, P. et al. Increased stocking density causes changes in expression of selected stress- and immune-related genes, humoral innate immune parameters and stress responses of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Fish and Shellfish Immunology**, v. 48, p. 43–53, 2016.

YIGIT, N. O. et al. Efficiency of *Ocimum basilicum* and *Eucalyptus globulus* essential oils on anesthesia and histopathology of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 53, n. 5, p. 1051–1061, 2022.

YOGEV, U.; GROSS, A. Reducing environmental impact of recirculating aquaculture systems by introducing a novel microaerophilic assimilation reactor: Modeling and proof of concept. **Journal of Cleaner Production**, v. 226, p. 1042–1050, 2019.

YOUSEFI, M. et al. Effects of dietary thyme essential oil and prebiotic administration on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) welfare and performance. **Fish and Shellfish Immunology**, v. 120, p. 737–744, 2022.

ZAHRAN, E. et al. *Nannochloropsis oculata* enhances immune response, transcription of stress, and cytokine genes in Nile tilapia subjected to air exposure stress. **Aquaculture Reports**, v. 21, p. 100911, 2021.

ZANUZZO, F. S. et al. *Aloe vera* enhances the innate immune response of pacu (*Piaractus mesopotamicus*) after transport stress and combined heat killed *Aeromonas hydrophila* infection. **Fish and Shellfish Immunology**, v. 65, p. 198–205, 2017.

ZARGAR, A. et al. Growth performance, immune response and disease resistance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed *Thymus vulgaris* essential oils. **Aquaculture Research**, v. 50, n. 11, p. 3097–3106, 2019.

ZHAO, D. H. et al. Elimination kinetics of eugenol in grass carp in a simulated transportation setting. **BMC Veterinary Research**, v. 13, n. 1, p. 1–6, 2017.

ZHAO, M. et al. Acute heat stress during transportation deteriorated the qualities of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillets during chilling storage and its relief attempt by ascorbic acid. **Lwt**, v. 156, p. 112844, 2022.

ZHAO, Y. et al. Transcriptome changes for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) in response to alkalinity stress. **Comparative Biochemistry and Physiology - Part D**, v. 33, p. 100651, 2020.

ZHENG, T. et al. Transport stress induces innate immunity responses through TLR and NLR signaling pathways and increases mucus cell number in gills of hybrid yellow catfish (*Tachysurus fulvidraco* ♀ × *Pseudobagrus vachellii* ♂). **Fish and Shellfish Immunology**, v. 127, p. 166–175, 2022.

ZHOU, T. et al. Transcriptomic responses to low temperature stress in the Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Fish and Shellfish Immunology**, v. 84, p. 1145–1156, 2019.

ZHU, H. P. et al. Screening and identification of microsatellite markers associated with cold tolerance in Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. **Genetics and Molecular Research**, v. 14, n. 3, p. 10308–10314, 2015.

ZOU, Q. et al. Effects of four feeding stimulants in high plant-based diets on feed intake, growth performance, serum biochemical parameters, digestive enzyme activities and appetite-related genes expression of juvenile GIFT tilapia (*Oreochromis* sp.). **Aquaculture Nutrition**, v. 23, n. 5, p. 1076–1085, 2017.