



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
DEPARTAMENTO DE AQUICULTURA  
CURSO DE ENGENHARIA DE AQUICULTURA

Paola Capistrano dos Santos

Avaliação hematológica em tilápia do Nilo *Oreochromis niloticus* anestesiadas com óleo essencial de manjerição *Ocimum basilicum* em diferentes temperaturas

Florianópolis  
2023

Paola Capistrano dos Santos

Avaliação hematológica em tilápia do Nilo *Oreochromis niloticus* anestesiadas com óleo essencial de manjerição *Ocimum basilicum* em diferentes temperaturas

Trabalho de Conclusão de Curso submetido ao curso de Engenharia de Aquicultura do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Aquicultura.

Orientador: Prof. Maurício Laterça Martins, Dr.  
Coorientadora: MSc. Emilly Monteiro Lopes

Florianópolis

2023

Santos, Paola Capistrano dos

Avaliação hematológica em tilápia do Nilo *Oreochromis niloticus* anestesiadas com óleo essencial de manjerição *Ocimum basilicum* em diferentes temperaturas /Paola Capistrano dos Santos ; orientador, Maurício Laterça Martins, coorientador, Emilly Monteiro Lopes, 2023.

43 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias, Graduação em Engenharia de Aquicultura, Florianópolis, 2023.

Inclui referências.

1. Engenharia de Aquicultura. 2. Aquicultura . 3. Parâmetros hematológicos . 4. Anestesia . 5. Estresse. I. Martins, Maurício Laterça. II. Lopes, Emilly Monteiro. III. Universidade Federal de Santa Catarina. Graduação em Engenharia de Aquicultura. IV. Título.

Paola Capistrano dos Santos

**Avaliação hematológica em tilápia do Nilo *Oreochromis niloticus* anestesiadas com óleo essencial de manjeriço *Ocimum basilicum* em diferentes temperaturas**

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi julgado adequado para obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Aquicultura e aprovado em sua forma final pelo Curso de Engenharia de Aquicultura

Florianópolis, 06 de novembro de 2023.

Coordenação do Curso

**Banca examinadora**

Prof. Maurício Laterça Martins, Dr.

Orientador

Prof.(a) Aline Brum Figueredo, Dr.(a)

Universidade Federal de Santa Catarina

MSc. Domickson Silva Costa

Universidade Federal de Santa Catarina

Florianópolis, 2023

## AGRADECIMENTOS

À Deus, meu anjo da guarda e todos que me guardam e me protegem pela vida, saúde e as oportunidades que me deram.

À minha mãe Neusa, dedico este trabalho e agradeço por todo apoio, amor e carinho, e por sempre acreditar em meu potencial e me incentivar a ir sempre além e jamais desistir.

À minha irmã Letícia, por todo apoio, amor e incentivo e ajuda durante esta trajetória.

À minha família, meus tios Tânia e Anésio, meus primos, Aline, Andreza, Guilherme, Lucas, Luíza e Lívia, amo muito vocês e obrigada por estarem comigo em todos os momentos.

Agradeço e dedico este trabalho à minha tia Neide (*in memoriam*), que não pôde ver a chegada deste momento, mas que sempre me apoiou e sem dúvidas está feliz assistindo todas as minhas conquistas.

Aos meus irmãos Gustavo e Gabriel, por todo amor e pelos momentos de descontração que me proporcionaram em meio ao período turbulento de execução deste trabalho.

Ao meu orientador, Prof. Maurício Laterça Martins, por me abrir as portas do AQUOS em um momento de muita indecisão em minha vida, e a partir de então pude descobrir um mundo de oportunidades onde eu jamais imaginei que pudesse existir. Além de todo ensinamento transmitido, confiança e apoio.

Às Professoras Arlene Sobrinho Ventura e Gabriela Tomas Jerônimo por todo auxílio e sugestões na execução deste trabalho.

Aos amigos que a UFSC me deu e que levarei por toda minha vida, Michelly, Júlia e Gabriel. Esse trio fez os meus dias melhores além de sempre me ajudar e apoiar quando eu precisei.

Aos amigos do Laboratório AQUOS, Gracienhe, Emilly, Alexandre, Domickson, Jucimauro, Manoela, Maria Clara, Vanessa, Mateus, Marília, Ana Paula, Graziela, Sílvia e Caio. Essa equipe maravilhosa que trabalha junto e em harmonia, agradeço demais a cada um por momentos incríveis onde além de trabalhar podemos brincar, rir e nos divertir. Além de uma equipe incrível, somos uma família.

À Emilly minha imensa gratidão, por me permitir fazer parte do seu projeto de mestrado e tanto me ajudar na execução deste trabalho.

Ao CNPq 409821/2021-7 pelo financiamento do projeto, CAPES e CNPq pela bolsa de iniciação científica.

## RESUMO

A realização de atividades de rotina em ambientes de cultivo tende a causar estresse aos animais cultivados, com isso, a utilização de anestésicos como método de inibição de estímulos estressantes se faz necessária visando assegurar o bem-estar animal. Os óleos essenciais apresentam elevado potencial para utilização como anestésicos na aquicultura. Com isso, manjeriço (*Ocimum basilicum*) é uma alternativa segura para a realização de procedimentos anestésicos em peixes. Embora o óleo essencial de manjeriço seja reconhecido por seu potencial na indução anestésica, a porém a avaliação do seu efeito anestésico sob diferentes temperaturas é pouco encontrada na literatura. O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito das temperaturas 23 e 27 °C sobre a hematologia de juvenis de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) submetidos à anestesia pelo óleo essencial de manjeriço. Para definição da concentração a ser utilizada no experimento de indução anestésica, foi realizado um ensaio I com 63 peixes submetidos a sete concentrações do óleo essencial de manjeriço (100, 150, 200, 250, 300, 350 e 400 mg L<sup>-1</sup>), para avaliação do tempo de indução anestésica. No experimento de indução anestésica, os peixes foram expostos ao óleo essencial de manjeriço na concentração de 250 mg L<sup>-1</sup> para avaliação hematológica e bioquímica em duas temperaturas (23 e 27 °C). Foram realizados banhos de 10 minutos utilizando 42 peixes por temperatura e sete peixes no controle com água e controle etanol 95%. A coleta do sangue foi realizada após a indução anestésica de cada temperatura para determinação de hematócrito, concentração de hemoglobina (Hb), número de eritrócitos (RBC), volume corpuscular médio (VCM), concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM), hemoglobina corpuscular média (HCM), valores relativos de leucócitos e valor absoluto de leucócitos e trombócitos. Além disso, as amostras de sangue foram utilizadas para avaliação bioquímica dos íons plasmáticos de cloreto e cálcio total. A análise de composição química por cromatografia gasosa demonstrou o metil chavicol (70,04%) e linalol (24,59%) como constituintes majoritários do óleo essencial de manjeriço. O ensaio I de indução anestésica revelou que a concentração de 250 mg L<sup>-1</sup> induziu o estágio anestésico em menor tempo (80 segundos) com rápida recuperação. Os peixes submetidos a indução anestésica com temperatura da água a 23 °C apresentaram contagens de neutrófilos menores ( $p < 0,05$ ) em comparação aos demais grupos testados. Para a temperatura de 27 °C, os valores de VCM, CHCM e eritrócitos reduziram ( $p < 0,05$ ) diante da exposição ao óleo essencial de manjeriço. Na avaliação bioquímica apenas o íon cálcio apresentou diferença estatística ( $p < 0,05$ ) entre os grupos controles nos peixes expostos à temperatura de 27 °C. Conclui-se que o óleo essencial de manjeriço apresentou efeito anestésico positivo, no entanto, a sua utilização à temperatura de 27 °C altera negativamente os dados hematológicos de tilápia do Nilo, já diante da temperatura de 23 °C não houve variações dos parâmetros hematológicos tendendo a um melhor equilíbrio entre o ambiente e o sistema osmorregulatório da espécie.

**Palavras-chave:** aquicultura; parâmetros hematológicos; anestesia; estresse.

## ABSTRACT

The performance of routine activities in cultivation environments tends to cause stress to cultured animals. Therefore, the use of anesthetics as a method to inhibit stressful stimuli is necessary to ensure animal well-being. Essential oils have high potential for use as anesthetics in aquaculture. Thus, *Ocimum basilicum* is considered a safe alternative for conducting anesthetic procedures in fish. Although basil essential oil is recognized for its potential in anesthesia induction, the evaluation of its anesthetic effect under different temperatures is not widely found in the literature. The aim of this study was to evaluate the effect of temperatures 23 and 27 °C on the hematology of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) juveniles subjected to anesthesia with basil essential oil. To determine the concentration to be used in the anesthetic induction experiment, a preliminary trial (Trial I) was conducted with 63 fish subjected to seven concentrations of basil essential oil (100, 150, 200, 250, 300, 350, e 400 mg L<sup>-1</sup>) to assess the induction time. In the anesthetic induction experiment, the fish were exposed to basil essential oil at a concentration of 250 mg L<sup>-1</sup> for hematological and biochemical evaluation at two temperatures (23 e 27 °C). Baths of 10 min were conducted using 42 fish per temperature, and seven fish in the control group with water and 95% ethanol control. The blood collection was performed after the anesthetic induction at each temperature to determine the hematocrit, hemoglobin concentration (Hb), red blood cell count (RBC), mean corpuscular volume (MCV), mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC), mean corpuscular hemoglobin (MCH), relative values of leukocytes and absolute values of leukocytes and thrombocytes. Additionally, blood samples were used for biochemical evaluation of plasma chloride and total calcium ions. The chemical composition analysis by gas chromatography demonstrated methyl chavicol (70,04%) and linalool (24,59%) as the major components of basil essential oil. The Trial I of anesthetic induction revealed that the concentration of 250 mg L<sup>-1</sup> induced the anesthetic stage in a shorter time (80 seconds) with rapid recovery. Fish exposed to anesthetic induction with water temperature at 23 °C showed lower neutrophil counts ( $p < 0,05$ ) compared to the other tested groups. For the temperature of 27 °C, values of MCV, MCHC and RBC values decreased ( $p < 0,05$ ) when exposed to basil essential oil. In the biochemical assessment, only the calcium ion showed a statistical difference ( $p < 0,05$ ) between the control groups in the fish exposed to a temperature of 27 °C. It is concluded that basil essential oil exhibited a positive anesthetic effect. However, its use at a temperature of 27 °C negatively affects the hematological data of Nile tilapia. On the other hand, at a temperature of 23 °C, there were no variations in hematological parameters, tending towards a better balance between the environment and the osmoregulatory system of the species.

**Keyword:** aquaculture; hematological parameters; anesthesia; stress.

## LISTA DE FIGURAS

**Figura 1** - Células do sangue de tilápia do Nilo (*O. niloticus*). A: Presença de monócitos (setas sólidas) e linfócitos (setas vazadas); B: Neutrófilos (setas vazadas) e monócito (seta sólida); C: Basófilo (seta vazada) e linfócitos (setas sólidas); D: Linfócitos (setas vazadas) e trombócitos (setas sólidas)..... 32



## LISTA DE QUADROS

<b>Quadro 1-</b> Estágios de indução anestésica em peixes. ....	16
<b>Quadro 2 -</b> Estágios de indução e recuperação anestésica em peixes utilizados no ensaio I do experimento com <i>O. basilicum</i> em tilápia do Nilo. ....	24

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> - Compostos presentes no óleo essencial de manjeriço. ....	27
<b>Tabela 2</b> - Valores medianos (ranking médio) dos tempos (s) de indução e recuperação anestésica de diferentes concentrações do óleo essencial de manjeriço ( <i>O. basilicum</i> ) em juvenis de tilápia do Nilo ( <i>O. niloticus</i> ). ....	28
<b>Tabela 3</b> - Parâmetros hematológicos (média $\pm$ desvio padrão) de tilápias do Nilo submetida à indução anestésica com óleo essencial de <i>Ocimum basilicum</i> sob temperatura da água a 23 °C. ....	30
<b>Tabela 4</b> - Parâmetros hematológicos (média $\pm$ desvio padrão) de tilápias do Nilo submetida à indução anestésica com óleo essencial de <i>Ocimum basilicum</i> sob temperatura da água à 27 °C. ....	31
<b>Tabela 5</b> - Avaliação bioquímica dos íons cloreto e cálcio (média $\pm$ desvio padrão) de tilápias do Nilo submetida à indução anestésica com óleo essencial de <i>Ocimum basilicum</i> sob temperatura da água à 23 e 27 °C. ....	32

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	14
1.1	CULTIVO DE TILÁPIA DO NILO .....	14
1.2	USO DE ANESTÉSICOS NA AQUICULTURA.....	15
1.3	INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA SOBRE A ANESTESIA .....	16
1.4	ANESTÉSICOS SINTÉTICOS E NÃO-SINTÉTICOS .....	17
1.5	ÓLEO ESSENCIAL DE <i>Ocimum basilicum</i> .....	19
1.6	HEMATOLOGIA EM PEIXES.....	20
<b>2</b>	<b>OBJETIVO GERAL</b> .....	22
2.1	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	22
<b>3</b>	<b>JUSTIFICATIVA</b> .....	22
<b>4</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	23
4.1	ÓLEO ESSENCIAL DE <i>Ocimum basilicum</i> .....	23
4.2	ANIMAIS.....	23
4.3	ENSAIO I PARA O EXPERIMENTO DE INDUÇÃO .....	24
4.4	INDUÇÃO ANESTÉSICA EM DIFERENTES TEMPERATURAS .....	25
4.5	COLETA DE SANGUE .....	25
<b>4.5.1</b>	<b>Análise bioquímica dos íons Cloreto e Cálcio total</b> .....	26
4.6	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	26
<b>5</b>	<b>RESULTADOS</b> .....	27
5.1	COMPOSIÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL .....	27
5.2	PRÉ-TESTE DE INDUÇÃO ANESTÉSICA.....	27
5.3	QUALIDADE DE ÁGUA .....	28
5.4	PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS .....	29
<b>6</b>	<b>DISCUSSÃO</b> .....	33
<b>7</b>	<b>CONCLUSÃO</b> .....	38

## 1 INTRODUÇÃO

### 1.1 CULTIVO DE TILÁPIA DO NILO

A aquicultura exerce importante função na produção de alimentos aquáticos com desafio de fornecer segurança alimentar e qualidade nutricional (AFEWERKI et al., 2023). Segundo a FAO (*Food and Agriculture Organization*) (2022), a produção aquícola em 2020 atingiu um total de 214 milhões de toneladas, representando US\$ 265 bilhões de cultivos de organismos aquáticos no mundo. Diante do aumento populacional, a aquicultura vem promovendo a otimização na produção para garantir a demanda por pescado, além de preservar os estoques pesqueiros de capturas indevidas (FAO, 2022). A indústria aquícola se destaca como uma indústria em constante evolução, graças às inovações no seu sistema de produção, representando um percentual de 8,8% do total das indústrias de alimentos a cada ano desde o início da década de 1980 (AHMAD et al., 2021). Dentre os as espécies mais cultivadas no mundo, destaca-se, em primeiro lugar a carpa-capim (*Ctenopharygodon idellus*), seguida pela carpa prateada (*Hypophthalmichthys molitrix*), e a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) como uma das espécies mais produzidas no setor, representando cerca de 9% da produção aquícola mundial (FAO, 2022).

A tilápia do Nilo é caracterizada por possuir alta versatilidade, adaptando-se a cultivos semi-intensivos e intensivos, além de demonstrar capacidade de adaptação a diversas tecnologias de produção, incluindo sistemas de recirculação e o sistema bioflocos (SUÁREZ-PUERTO; ARANEDA; GULLIAN-KLANIAN, 2023). Em 2021, foram produzidas mais de 4,82 milhões de toneladas da espécie no mundo, sendo a Indonésia a maior produtora (FAO, 2023). No Brasil, a tilapicultura impulsionou o crescimento da piscicultura, colocando o país na quarta posição entre os maiores produtores mundiais, correspondendo a 7,48% da produção mundial, representando em valores cerca de US\$ 9,68 bilhões (FAO, 2023). A espécie é altamente valorizada pelos produtores por possuir facilidade e custos reduzidos de produção, e elevado crescimento e resistência ao surgimento de doenças bem como ao estresse ambiental (YOUSEFI et al., 2022).

O cultivo de tilápia do Nilo é realizado em diferentes etapas, e normalmente o processo de produção não é conduzido em sua totalidade em uma única fazenda de cultivo. O local de produção de alevinos é geralmente distinto do local de engorda dos animais, portanto, o transporte desempenha um papel fundamental na cadeia produtiva dessa espécie (SIMÕES et al., 2011). O transporte é uma atividade que ocorre regularmente e representa um momento crucial na tilapicultura, uma vez que manter os parâmetros ideais de qualidade de água durante

esse procedimento é um grande desafio (BECKER et al., 2017; FREIRE et al., 2019). Diante disso, o transporte promove variação de fatores como temperatura, pH, oxigênio dissolvido e mudança de ambiente, potencializando o estresse aos animais (MEDEIROS-JUNIOR; BRITO, 2021). Além do transporte, atividades como vacinação, biometria e manejo diário podem ser estressantes aos animais. Assim, em resposta ao processo estressante, os peixes tendem a manter a estabilidade através do seu estado homeostático (SILVA et al., 2015). A tilápia é uma espécie que demonstra notável capacidade de se adaptar diferentes faixas de temperatura. Sua faixa ideal de temperatura varia de 20 a 30 °C, no entanto, temperaturas elevadas podem aumentar a suscetibilidade a doenças e temperaturas próximas a 10 °C podem resultar a morte da espécie da (DEY et al., 2023).

## 1.2 USO DE ANESTÉSICOS NA AQUICULTURA

O estresse é descrito como alterações no estado fisiológico de peixes em decorrência de condições ambientais que representam uma ameaça à sua sobrevivência (ROSS; ROSS, 2008). Nesse contexto, os anestésicos são empregados a fim de promover práticas de manejo seguras aos animais sendo eficazes na redução do estresse e da dor. Assim, são considerados uma ferramenta indispensável na piscicultura para redução dos fatores estressantes causados por procedimentos como pesagem, transporte, manuseio na biometria, coleta de sangue e vacinação, além de prevenir eventuais mortalidades durante o manejo (SNEDDON, 2012; MEDEIROS-JUNIOR; BRITO, 2021).

Os anestésicos na aquicultura são utilizados desde o século XX, desde então, diversos estudos vêm sendo conduzidos para comprovar seus benefícios na segurança animal (PRIBORSKY; VELISEK, 2018; BIANCHINI et al., 2019). Roohi e Imanpoor (2015), ressaltam que situações estressantes em procedimentos nas fazendas de produção resultam na redução da capacidade imunológica e crescimento e na vulnerabilidade ao surgimento de doenças em peixes, com isso, as substâncias anestésicas são empregadas com o propósito de minimizar os efeitos prejudiciais do estresse.

De acordo com Ross e Ross (2008), os estágios de sedação e anestesia em peixes diferem quanto suas características de percepção sensorial. A sedação é um estado anterior a anestesia, na qual não há perda sensorial total, enquanto a anestesia leva a perda sensorial completa (ROSS; ROSS, 2008). Os estágios de indução bem como a profundidade anestésica podem ser divididos em cinco classes, com diferentes respostas comportamentais aos peixes (Quadro 1).

**Quadro 1-** Estágios de indução anestésica em peixes.

<b>Estágio</b>	<b>Descrição</b>	<b>Resposta comportamental</b>
0	Normal	Equilíbrio normal, estímulos musculares normais, atividade opercular normal.
I	Sedação leve	Perda parcial do equilíbrio, desorientação, perda parcial à estímulos externos.
II	Sedação profunda	Perda total do equilíbrio, natação errática, redução da atividade opercular.
III	Anestesia profunda	Perda do reflexo, respiração irregular e movimentação lenta do opérculo.
IV	Recuperação	Recuperação do equilíbrio e natação normal.

Fonte: Adaptado de Ross e Ross (2008); Sneddon (2012); Zahl, Samuelsen, Kiessling (2012); Yousefi et al. (2022).

A indução anestésica em peixes é normalmente realizada por banhos de imersão, para tanto, os animais são acondicionados em um recipiente, que variam desde aquários até um simples balde. Em seguida, o anestésico é dissolvido na água, e avaliado o nível de anestesia alcançado com base na profundidade do estado anestésico (SNEDDON, 2012). Durante o procedimento de indução, o anestésico é absorvido pelas brânquias e transportado até o sistema nervoso central (SNC) por meio do sangue arterial, no entanto, quando os peixes são transferidos para um recipiente livre de anestésico, ocorre o processo de excreção de metabólitos através da pele e brânquias (GHOLIPOURKANI; AHADIZADEH, 2013; PRIBORSKY; VELISEK, 2018).

O anestésico considerado apropriado para utilização na aquicultura é aquele que minimiza os efeitos estressantes e apresenta as melhores relações dose-resposta, bem como melhor caracteriza o comportamento do peixe durante as fases de indução e recuperação (AYDIN; BARBAS, 2020). Além disso, a solubilidade na água, disponibilidade no mercado, valor econômico, toxicidade à humanos e animais além do tempo de eliminação dos compostos são considerados aspectos relevantes para a escolha de um anestésico para uso em peixes (PRIBORSKY; VELISEK, 2018). Peixes de diferentes espécies, idades e sexos manifestam respostas distintas aos anestésicos, conseqüentemente, a dosagem e eficácia de um anestésico específico irão variar conforme a fisiologia do animal (ZAHN et al., 2009)

### 1.3 INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA SOBRE A ANESTESIA

Os peixes são animais ectotérmicos, ou seja, a temperatura corporal destes se aproxima da temperatura do ambiente devido às trocas de calor que ocorrem de forma majoritária e mais eficiente nas brânquias, onde interagem com o ambiente (ROSS; ROSS, 2008). A aplicação de

anestésicos nos peixes é afetada por variáveis como idade, sexo e tamanho, bem como entre diferentes espécies, resultando em respostas variadas mesmo diante de uma mesma dose de anestésico. Além disso, essas respostas são influenciadas por fatores ambientais, como salinidade, pH, níveis de oxigênio dissolvido e temperatura da água (ZAHAL et al., 2009).

Para diversas espécies, a variação da temperatura atua como um importante fator estressante (HUSEN; SHARMA, 2014). Diante do uso de anestésicos, a temperatura é uma variável significativa a ser considerada pois a concentração anestésica bem como a indução anestésica são influenciadas pela temperatura (MEDEIROS-JUNIOR; BRITO, 2021), pois de acordo com Aydın et al. (2015), o tempo de indução e recuperação anestésica possui uma relação direta com o metabolismo dos peixes.

Os processos fisiológicos dos peixes estão associados à temperatura, pois desempenham uma função significativa na relação entre absorção e eliminação dos compostos anestésicos, além disso, a variação da temperatura é capaz de aumentar o metabolismo dos peixes promovendo o aumento do fluxo sanguíneo nas brânquias (ZAHAL et al., 2011). Zahl et al. (2009), relataram que diante de temperaturas mais elevadas, os peixes tendem a apresentar tempos mais curtos de indução e mais longos para recuperação da anestesia. Mylonas et al. (2005), observaram que o aumento da temperatura em robalo europeu (*Dicentrarchus labrax*) anestesiados com óleo de cravo e 2-fenoxietanol apresentaram tempos menores de indução e maior tempo de recuperação diante da temperatura de 25 °C. O mesmo foi observado para o linguado-do-atlântico (*Hippoglossus hippoglossus*) (ZAHAL et al., 2011) submetido a diferentes anestésicos sintéticos. Portanto, estudos revelam que diferentes temperaturas influenciam diretamente no metabolismo do animal, no entanto, a avaliação da relação entre a temperatura/indução anestésica, e a influência destas sobre a hematologia são pouco encontradas na literatura.

#### 1.4 ANESTÉSICOS SINTÉTICOS E NÃO-SINTÉTICOS

Os anestésicos utilizados em peixes são divididos em sintéticos e não sintéticos à base de plantas. Os sintéticos mais comuns utilizados na aquicultura são o metanossulfonato de triclaína (MS-222), quinaldina, benzocaína, 2-fenoxietanol e metomidato, contudo, o MS-222 é o único anestésico utilizado em peixes que possui liberação para uso em peixes de consumo nos Estados Unidos pela agência reguladora de drogas e alimentos (*Food and Drug Administration - FDA*) (COYLE; DURBOROW; TIDWELL, 2004; GONÇALVES et al., 2008; PRIBORSKY; VELISEK, 2018). Entretanto, o uso de produtos sintéticos pode provocar efeitos adversos aos

animais como a produção excessiva de muco, hiperatividade, agitação e irritação, além disso, possuem elevado valor comercial, causam danos ao meio ambiente e acumulam-se no tecido muscular dos peixes apresentando riscos para o consumo humano (AYDIN; BARBAS, 2020; YIGIT et al., 2022).

Devido a série de inconvenientes associados à utilização de substâncias sintéticas, o interesse acerca do uso de produtos naturais para anestésicos em peixes vem aumentando, principalmente, por suas características de baixa toxicidade tanto para os animais quanto aos consumidores, ao seu custo reduzido, ao menor impacto ambiental aos corpos d'água e à diminuição da presença de resíduos químicos no músculo dos animais (SANTOS; REZENDE; MORON, 2020).

Os anestésicos não sintéticos à base de plantas, como os óleos essenciais, representam uma alternativa eficiente e segura para a realização de procedimentos anestésicos em peixes (BARBAS et al., 2017). Metabolizados a partir de plantas, os óleos essenciais são constituídos por princípios ativos que possuem características terapêuticas e compostos lipofílicos voláteis (SOUZA et al., 2019). Os óleos essenciais possuem um aroma marcante e são extraídos de várias partes das plantas, tais como folhas, flores, sementes ou cascas. O extrato bruto é obtido através de vapor d'água ou destilação a seco para a produção destes líquidos oleosos (AZIZ et al., 2018). Os óleos essenciais são amplamente reconhecidos por sua eficácia em funções biológicas, propriedades antibacterianas, antifúngicas e antioxidantes (GURKAN; HAYALOGLU, 2023).

O anestésico natural mais utilizado na aquicultura é o óleo de cravo, originário da destilação de plantas pertencentes ao gênero *Syzygium*, que possui o eugenol como principal constituinte do processo de destilação (cerca de 70 a 90%) (GONÇALVES et al., 2008; ROSS; ROSS, 2008). O eugenol representa uma ótima alternativa diante do uso de anestésicos sintéticos, pois apresenta elevadas taxas de recuperação e baixa mortalidade, além disso, possui baixo custo e não deixa resíduos tóxicos nos tecidos dos peixes (BODUR et al., 2018).

De acordo com Ross & Ross (2008), apesar de os resultados proporcionados com a utilização do óleo de cravo como anestésico sejam notáveis, sua aplicação não é apropriada em peixes destinados comercialização devido sua rápida penetração nos tecidos, conferindo-lhe o sabor característico do cravo. Além disso, o óleo de cravo possui uma limitação como anestésico devido sua estreita faixa de segurança, o que significa que uma pequena variação na dosagem pode resultar na mortalidade dos peixes ou em um tempo de recuperação prolongado para aqueles que sobreviverem (PURBOSARI et al., 2019). Além do óleo de cravo, pesquisas vêm sendo desenvolvidas a fim de avaliar os efeitos sedativos e anestésicos em peixes com



diversos óleos essenciais, como por exemplo a menta (*Menta arvensis*) (ANANIAS et al., 2022), erva-cidreira (*Lippia alba*) (BECKER et al., 2012), tomilho (*Thymus vulgaris*) (BOAVENTURA et al., 2020), alfavaca (*Ocimum gratissimum*) (SILVA et al., 2020), e manjeriço (*Ocimum basilicum*) (VENTURA et al., 2021a).

### 1.5 ÓLEO ESSENCIAL DE *Ocimum basilicum*

O gênero *Ocimum* possui mais de 150 espécies catalogadas, estes possuem variedades evolutivas decorrentes tanto do polimorfismo quanto das condições ambientais (KHOLIYA et al., 2022). Popularmente conhecido como manjeriço, o *Ocimum basilicum*, pertencente à família Lamiaceae, é originário dos continentes asiático, africano, sul-americano e central, e possui grande importância econômica principalmente na indústria farmacêutica (MARTINS et al., 2010; PRAVUSCHI et al., 2010). O manjeriço é uma das espécies de ervas aromáticas mais utilizadas devido sua apreciação tanto na culinária, característico por seu sabor e aroma marcante, quanto na medicina, devido às suas propriedades anti-inflamatórias, tratando problemas como gastrite, dor abdominal e febre (BELTRÁN-NOBOA et al., 2022). O óleo essencial obtido a partir da extração de *O. basilicum* é um composto altamente valorizado nas indústrias de alimentos, bebidas, cosméticos e perfumarias (GURKAN; HAYALOGLU, 2023).

Dentre os principais constituintes do óleo essencial de *O. basilicum* destacam-se o linalol, metil chavicol, metil cinamato, metil eugenol e eugenol (KHOLIYA et al., 2022). De acordo com Ventura et al. (2020), os compostos metil chavicol e linalol representam, na grande maioria dos exemplares, os principais componentes do óleo essencial de *O. basilicum*. No entanto, estudos demonstram que os compostos constituintes do óleo de manjeriço podem variar de acordo com a espécie cultivada e também com a localização do cultivo, já que condições ambientais influenciam sobre a planta fazendo com que esta apresente variação dos compostos (GURKAN; HAYALOGLU, 2023).

Além dos benefícios comprovados para humanos, o manjeriço também possui aplicabilidade com fins terapêuticos para animais, como os peixes. Na aquicultura, o óleo essencial de *O. basilicum* é utilizado devido suas propriedades antimicrobianas, antioxidantes, sedativa e anestésica (SOUZA et al., 2019). O óleo de manjeriço possui um importante caráter antibacteriano, inibindo o crescimento de bactérias patogênicas na aquicultura, como por exemplo *Aeromonas hydrophila*, que acomete grande parte dos cultivos causando infecções agudas e mortalidade (CAPPARUCCI et al., 2022). Além disso, apresenta caráter nutritivo, pois quando adicionado a dieta de carpa comum (*Cyprinus carpio*) o óleo essencial de

manjeriço demonstrou melhor desempenho no crescimento da espécie (AMIRKHANI; FIROUZBAKHSI, 2015).

O potencial sedativo e anestésico do óleo essencial de manjeriço em peixes vem sendo investigado na aquicultura. Os efeitos proporcionados pela indução anestésica do óleo essencial foram demonstrados em estudos com tambaqui (*Colossoma macropomum*) (VENTURA et al., 2021a), tambacu (*Piaractus mesopotamicus* macho x *Colossoma macropomum* fêmea) (LIMMA-NETTO et al., 2016) e tilápia do Nilo (*O. niloticus*) (VENTURA et al., 2020). Diante disso, a aquicultura vem promovendo o uso do óleo essencial de *O. basilicum* como anestésico devido à sua atividade sedativa segura minimizando o estresse atribuído às atividades rotineiras (VENTURA et al., 2021b).

A adição de óleos essenciais à água para a realização de procedimentos de manejo nas pisciculturas, além de reduzir o estresse, proporciona a redução da sensibilidade, estímulos visuais e mecânicos e garante a preservação das variáveis de qualidade de água (AYDIN & BARBAS, 2020). Assim, o óleo essencial de *O. basilicum* é considerado um potencial anestésico para ser utilizado na piscicultura devido a suas propriedades anestésicas e sedativas, contudo, este óleo ainda não possui regulamentação para ser usado, pois é preciso conhecer as possíveis alterações fisiológicas que este provoca (VENTURA et al., 2020).

## 1.6 HEMATOLOGIA EM PEIXES

A realização de estudos hematológicos em peixes é tida como um importante e eficaz método de diagnóstico na aquicultura (ARAÚJO et al., 2011). As análises hematológicas e bioquímicas são consideradas bons indicadores para avaliação do estresse e saúde em animais (AYDIN; BARBAS, 2020). Variações hematológicas são observadas em peixes considerados estressados, no entanto, as mudanças nos parâmetros sanguíneos dependem do agente estressor, sua dimensão e o tempo de ação (WITESKA et al., 2022).

A avaliação hematológica em peixes é realizada a partir dos parâmetros hematológicos que são constituídos por concentração de hemoglobina (Hb), hematócrito, número de eritrócitos (RBC), volume corpuscular médio (VCM), concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM), hemoglobina corpuscular média (HCM), valores relativos de leucócitos e valor absoluto de leucócitos e trombócitos (BURGOS-ACEVES; LIONETTI; FAGGIO, 2019). De acordo com Tavares-Dias et al. (2009), a instabilidade no estado homeostático dos peixes pode ser avaliada através do leucograma. Da mesma forma, as mudanças nos padrões hematológicos e os distúrbios morfológicos de células sanguíneas podem ser empregados como indicadores

das condições de peixes sujeitos a variações no ambiente, uma vez que essas alterações ocorrem como mecanismo de defesa aos danos causados (TAVARES-DIA et al., 2009).

Embora sejam empregados para reduzir os efeitos estressantes resultantes do manejo, os anestésicos naturais podem desencadear alterações nos parâmetros hematológicos e bioquímicos (BOAVENTURA et al., 2020). Quando submetidos a estresse agudo provocado por anestesia prolongada, os peixes tendem a apresentar alterações hematológicas, isso deve ao aumento da concentração de oxigênio no sangue durante o processo (YOUSEFI et al., 2022). Ananias et al. (2022) afirmam que durante a indução anestésica, os peixes sob condições de hipóxia tendem a aumentar a concentração de hemoglobina, pois devido ao aumento do transporte de oxigênio no sangue, resulta em uma maior afinidade entre a hemoglobina e as moléculas de oxigênio. Rożyński et al. (2018) observaram alterações hematológicas e bioquímicas em perca europeia (*Perca fluviatilis*) anestesiadas com etomidato. O mesmo foi observado por Witeska et al. (2015), em carpa-comum (*Cyprinus carpio*) anestesiados com os anestésicos químicos 2-fenoxietanol, etomidato e triclaína.

Em peixes, a resposta imunológica ao estresse é caracterizada por uma série de alterações fisiológicas, como a liberação dos hormônios neuroendócrinos catecolaminas e cortisol no sistema circulatório que causam a variação no balanço dos eletrólitos plasmáticos (GRESSLER et al., 2015). No entanto, em peixes de água doce, a mudança da permeabilidade branquial ocasiona a perda de eletrólitos sanguíneos e distúrbios osmorregulatórios (SILVA et al., 2012). Estudos demonstram que a indução do estresse por anestésicos ocasiona o incremento nos níveis iônicos, como por exemplo nos íons cloreto ( $\text{Cl}^-$ ) e cálcio total ( $\text{Ca}^{2+}$ ), afetando a fisiologia circulatória e a capacidade osmorregulatória do animal (ROSS; ROSS, 2008). Yousefi et al. (2022), afirmam que os parâmetros bioquímicos plasmáticos podem ser afetados tanto por anestésicos sintéticos quanto por óleos essenciais utilizados como anestésicos.

A análise da porção figurada sanguínea, constituída por eritrócitos, leucócitos e trombócitos, possui grande relevância pois servem como indicadores biológicos no monitoramento da saúde dos peixes (TAVARES-DIAS et al., 2009). A instabilidade do sistema imunológico em consequência a exposição ao anestésico natural, tende a ocasionar o aumento dos leucócitos, que são as células de defesa, assim como os valores de eritrócitos (VENTURA et al., 2021b). Além disso, o estresse sofrido pelo uso de anestesia também causa influência sobre a contagem diferencial de leucócitos, causando mudanças nos valores de linfócitos, neutrófilos, monócitos, basófilos e eosinófilos (WITESKA et al., 2022). Portanto, o aumento da demanda de energia ocasionado pelo estresse sofrido ao peixe durante o período exposição

ao anestésico, no qual ocorre maior necessidade de oxigênio, tende a causar elevação nos parâmetros hematológicos da série vermelha (VENTURA et al., 2020).

À vista disso, o presente trabalho irá avaliar a hematologia de juvenis de tilápia-do-Nilo (*O. niloticus*) submetidos a anestesia pelo óleo essencial de *O. basilicum* em diferentes temperaturas.

## 2 OBJETIVO GERAL

Avaliar a influência da temperatura nas respostas hematológicas e iônicas de juvenis de tilápia do Nilo (*O. niloticus*) anestesiadas com o óleo essencial de *O. basilicum*.

### 2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Analisar os parâmetros hematimétricos de tilápia do Nilo expostas às temperaturas 23 e 27 °C anestesiadas com o óleo essencial de manjeriço (*O. basilicum*);
- Avaliar a contagem de trombócitos e diferencial de leucócitos em tilápia do Nilo expostas às temperaturas 23 e 27 °C anestesiadas com óleo essencial de manjeriço (*O. basilicum*);
- Verificar os níveis dos íons plasmáticos cloreto e cálcio total de tilápia do Nilo expostas às temperaturas 23 e 27 °C anestesiadas com o óleo essencial de manjeriço (*O. basilicum*).

## 3 JUSTIFICATIVA

A utilização de produtos naturais, como os óleos essenciais com finalidade anestésicas, tem como principal objetivo reduzir a dependência de anestésicos sintéticos, que além de representarem altos custos aos produtores, além de poder contaminar os peixes com resíduos químicos. Esta abordagem tem a finalidade de promover a saúde dos animais aquáticos e contribuir para a sustentabilidade da aquicultura reduzindo os riscos de toxicidade da água. A capacidade de redução de fatores estressantes como desconforto no ambiente aquático aos peixes é uma das principais finalidades para o estudo de anestésicos na aquicultura. A aplicação do óleo essencial de *O. basilicum* como anestésico não apenas demonstra eficácia no que se refere ao efeito desejado em peixes, mas também minimiza potenciais adversidades, incluindo reações hematológicas indesejadas. Isto representa uma alternativa promissora aos anestésicos

sintéticos além de contribuir positivamente para a prática da aquicultura. A avaliação da utilização de anestésicos naturais relacionados à hematologia em peixes abre novas perspectivas para a atividade fornecendo importantes informações sobre os efeitos da sua utilização.

#### 4 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Laboratório de Sanidade de Organismos Aquáticos (AQUOS) da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC). Todos os procedimentos aplicados aos animais foram aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA/UFSC nº 7363211122).

##### 4.1 ÓLEO ESSENCIAL DE *Ocimum basilicum*

O óleo essencial foi adquirido comercialmente (Phytoterápica<sup>®</sup>, Nova Cantareira, Brasil). As análises da composição química do óleo essencial, foram realizadas empregando a cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM) realizado na Universidade Federal de Grande Dourados.

##### 4.2 ANIMAIS

Os juvenis de tilápia do Nilo, foram oriundos da Estação Experimental da Epagri em Itajaí – EEI/EPAGRI-SC (n = 175) com peso médio entre 20 a 30 g e transportados para o AQUOS, onde permaneceram por sete dias em quarentena distribuídos em um tanque circular de polietileno com volume total de 1 m<sup>3</sup> com densidade de 4,38 kg/m<sup>3</sup>. Posteriormente, os peixes foram distribuídos em 10 tanques circulares de polietileno de 0,1 m<sup>3</sup> por 15 dias em sistema de recirculação de água, com decantador, filtro mecânico e filtro biológico contendo esponjas porosas, para aclimatação na densidade de 0,04 kg/0,1 m<sup>3</sup>. Os tanques foram mantidos em aeração constante, controle de temperatura com aquecedores e taxa de renovação de água de 10% por dia.

O monitoramento das variáveis de qualidade de água incluindo, temperatura (°C), oxigênio dissolvido (mg L<sup>-1</sup>) e pH foram realizados diariamente com o medidor multiparâmetro (Hanna HI98190<sup>®</sup>). As concentrações de amônia total (NH<sub>3</sub>) e nitrito (NH<sub>2</sub>) foram determinadas através de kits colorimétricos comerciais (Alfakit<sup>®</sup>). Os animais foram alimentados três vezes ao dia com ração comercial Acqua Line<sup>®</sup> 1,7 mm (Proteína bruta 46%, Extrato Etéreo 8%,

Matéria Fibrosa 3%, Matéria Mineral 14 %, Cálcio 1,5% a 3%, Fósforo 1%) até a saciedade aparente e submetidos ao jejum por 24 horas antes do experimento.

#### 4.3 ENSAIO I PARA O EXPERIMENTO DE INDUÇÃO

Ao final do período de aclimação, os juvenis de tilápia do Nilo foram transferidos para aquários de 13 L contendo 4 L de água e solução do óleo essencial de *O. basilicum*. Posteriormente, sete concentrações do óleo essencial: 100, 150, 200, 250, 300, 350 e 400 mg L<sup>-1</sup>, foram utilizadas para avaliar os tempos de indução anestésica em delineamento inteiramente casualizado (DIC) (n = 63), com peso médio de 45,27 ± 11,29 g e comprimento médio de 14,12 ± 1,19 cm, nove (n = 9) peixes por concentração em triplicata, previamente diluídos em etanol a 95% em fator 1:9, seguindo a ordem da menor para a maior concentração (adaptado de Limma-Netto; Oliveira; Copatti, 2017). Os peixes foram imersos na solução anestésica em aquários de volume útil de 13 L contendo 4 L e observados pelo tempo máximo de 30 minutos. Cada peixe foi exposto ao óleo essencial de manjeriço apenas uma vez, após o banho de imersão, os peixes foram transferidos para aquários contendo aeração e água sem adição de anestésico para recuperação.

O monitoramento dos estágios de indução anestésica e recuperação foram avaliados de acordo com a Quadro 2 e o tempo de exposição foi contabilizado utilizando cronômetro digital. Os peixes foram considerados recuperados quando observada a capacidade de natação, equilíbrio e resposta a estímulos externos (WOODY et al., 2002; VENTURA et al., 2019), já sobrevivência foi observada até 96 horas após o período de indução anestésica.

**Quadro 2** - Estágios de indução e recuperação anestésica em peixes utilizados no ensaio I do experimento com *O. basilicum* em tilápia do Nilo.

<b>Estágios</b>	<b>Descrição</b>	<b>Respostas comportamentais em peixes</b>
0	Normal	Equilíbrio normal; frequência opercular normal; reativos a estímulos externos*.
I	Sedação Leve	Perda parcial do equilíbrio; frequência opercular lenta; perda da reatividade à estímulos externos.
II	Sedação Profunda	Perda total do equilíbrio; frequência opercular ligeiramente reduzida; natação lateral.
III	Anestesia	Peixes imóveis no fundo do aquário, sem reação a pressão sobre o pedúnculo caudal com bastão de vidro.
IV	Recuperação	Natação normal e reação a estímulos externos.

Fonte: Adaptado de Gomes et al., 2011; Souza et al., 2015; Aydın et al., 2019. \*Estímulo externo: batida no fundo do aquário com bastão de vidro.

#### 4.4 INDUÇÃO ANESTÉSICA EM DIFERENTES TEMPERATURAS

Para o estudo da influência do anestésico sobre os parâmetros hematológicos foi utilizada a concentração de 250 mg L<sup>-1</sup> do óleo essencial de *O. basilicum* obtida a partir do ensaio I de indução e recuperação anestésica.

Para o banho de imersão por 10 minutos sob diferentes temperaturas foram utilizados 112 juvenis de tilápia do Nilo ( $64,99 \pm 13,90$  g e  $15,63 \pm 1,16$  cm) distribuídos aleatoriamente em três aquários de 30 L. Para cada temperatura foram utilizados 42 peixes para exposição à solução anestésica do óleo essencial de manjerição, sete peixes em aquário contendo solução diluente (etanol 95%) e sete peixes em aquário contendo apenas água.

Após o banho de imersão com óleo essencial, os peixes expostos ao OE foram transferidos para 14 aquários de 30 L, com seis peixes por aquário, juntamente com os peixes do grupo contendo o diluente e grupo controle contendo apenas água, com sete peixes por aquário livre de anestésico e solução diluente, para as temperaturas de 23 e 27 °C. Os peixes não foram alimentados após a realização do experimento e foram registradas a sobrevivência dos animais.

#### 4.5 COLETA DE SANGUE

Para as análises hematológicas, após exposição ao óleo essencial de manjerição foram coletadas amostras sanguíneas após a realização da indução anestésica de cada temperatura. Para os grupos controle com solução diluente e solução água, foi realizada a coleta das amostras de sangue de todos os peixes de ambas as temperaturas (23 e 27 °C) sem a utilização de anestesia.

Para a coleta das amostras de sangue, os peixes foram capturados individualmente e contidos com pano umedecido. O sangue foi coletado por punção do vaso caudal com seringas contendo solução anticoagulante EDTA 10% (ácido etilenodiaminotetracético). Após, o sangue foi utilizado para a confecção de extensões sanguíneas em duplicata e as lâminas coradas com May Grunwald Giemsa-Wright (RANZANI-PAIVA et al., 2013), para a determinação dos valores absolutos de leucócitos e trombócitos, bem como os valores relativos de leucócitos. Para a determinação do número total de eritrócitos uma alíquota de 5 µL de sangue foi diluído (1:200) em fluido de Dacie (citrato de sódio, formalina a 37-40%, azul de toluidina) modificado conforme Blaxhall e Daisley (1973), em seguida, a quantificação dos eritrócitos foi realizada em uma câmara de Neubauer. Uma alíquota de sangue foi utilizada para determinar a

porcentagem de hematócrito pelo método microhematócrito, além disso, outra parte foi usada para as análises da concentração de hemoglobina com reagentes comerciais (LabTest Diagnóstica<sup>®</sup>), volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina corpuscular média (HCM) e concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM), utilizando as seguintes equações (RANZANI-PAIVA et al., 2013):

$$VCM (fL) = \frac{\text{Hematócrito} \times 10}{\text{Número de eritrócitos}} \quad (1)$$

$$HCM (g \cdot dL^{-1}) = \frac{\text{Taxa de Hemoglobina} \times 10}{\text{Número de eritrócitos}} \quad (2)$$

$$CHCM (g \cdot dL^{-1}) = \frac{\text{Taxa de hemoglobina} \times 100}{\text{Hematócrito}} \quad (3)$$

#### 4.5.1 Análise bioquímica dos íons cloreto e cálcio total

Para avaliação dos íons plasmáticos cloreto ( $Cl^-$ ) e cálcio total ( $Ca^{2+}$ ), as amostras de sangue foram centrifugadas a 3000 rpm por cinco minutos para obtenção do plasma. Os testes foram realizados utilizando metodologia colorimétrica por reagentes comerciais (LabTest Diagnóstica<sup>®</sup>). Nos testes, foram utilizados 10  $\mu$ L do plasma em *pool* (seis peixes de cada aquário), seguindo as instruções do fabricante dos kits. Para determinar as concentrações dos íons nas amostras, foi utilizado o espectrofotômetro para medir a absorvância. Posteriormente, os resultados foram calculados usando as seguintes equações:

$$\text{Cloreto} (mEq/L) = \frac{\text{Absorvância do teste}}{\text{Absorvância do Padrão}} \times 100 \quad (4)$$

$$\text{Cálcio} (mg/dL) = \frac{\text{Absorvância do teste}}{\text{Absorvância do Padrão}} \times 10 \quad (5)$$

#### 4.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA



Os dados de indução e recuperação não paramétricos foram analisados pelo teste de Kruskal-Wallis ( $p < 0,05$ ) seguido do teste de Dunn. Para as análises hematológicas e iônicas, os dados foram submetidos a testes de Shapiro-Wilk e Levene para avaliar a distribuição normal e homocedasticidade de variância, respectivamente. Os dados não homogêneos foram transformados em log 10, para alcançar a homogeneidade. Posteriormente, os dados foram submetidos à análise de variância *One-way* ANOVA, e quando apropriado, as médias foram separadas pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). As análises foram realizadas utilizando o *software Statistica* 10.0. Nível de significância 5%.

## 5 RESULTADOS

### 5.1 COMPOSIÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL

A análise de composição química do óleo essencial de manjeriço revelou que os principais componentes encontrados no óleo foram o metil chavicol, representando 70,04% da composição, e o linalol, que correspondeu a 24,59% como constituintes majoritários, enquanto os constituintes minoritários totalizaram 5,37% (Tabela 1).

Os limites de detecção e quantificação do constituinte metil chavicol foram de 0,007  $\mu\text{g kg}^{-1}$  e 0,023  $\mu\text{g kg}^{-1}$  e para o linalol de 0,006  $\mu\text{g kg}^{-1}$  e 0,020  $\mu\text{g kg}^{-1}$ , respectivamente.

**Tabela 1** - Compostos presentes no óleo essencial de manjeriço.

Óleo essencial de <i>O. basilicum</i>	
Composição	Porcentagem total (%)
Metil Chavicol	70,04
Linalol	24,59
$\delta$ -Carene	1,20
1,8-Cineol	1,14
Eugenol	1,25
$\gamma$ -Elemene	0,88
Espatulenol	0,90
<b>Total</b>	<b>100</b>

### 5.2 ENSAIO I DE INDUÇÃO ANESTÉSICA

Quanto maior a concentração do óleo essencial de manjeriço menor o tempo decorrido para atingir o estágio anestésico ( $y = 0,0009x^2 - 0,782x + 220,26$ ). A concentração

de 250 mg L<sup>-1</sup>, induziu em 80,0 segundos (1,33 min) e o tempo de recuperação foi de 421 segundos (7,02 min) minutos com sobrevivência de 100% dos peixes (Tabela 2). Durante a realização do ensaio I as variáveis de qualidade de água foram mensuradas, sendo que a temperatura foi de 27,23 ± 0,84 °C, oxigênio dissolvido 6,33 ± 1,28 mg L<sup>-1</sup>, pH 6,45 ± 0,57 e amônia total de 1,48 ± 0,85 mg L<sup>-1</sup>.

**Tabela 2** - Valores medianos (ranking médio) dos tempos (s) de indução e recuperação anestésica de diferentes concentrações do óleo essencial de manjeriço (*O. basilicum*) em juvenis de tilápia do Nilo (*O. niloticus*).

Concentração mg L <sup>-1</sup>	Estágio 3 (s)	Recuperação (s)
100	157,00 (59,0) <sup>a</sup>	296,00 (12,1) <sup>bc</sup>
150	102,00 (47,0) <sup>ab</sup>	296,00 (11,1) <sup>bc</sup>
200	87,00 (37,4) <sup>abc</sup>	367,00 (24,5) <sup>b</sup>
250	80,00 (31,4) <sup>bcd</sup>	421,00 (35,4) <sup>ab</sup>
300	79,00 (30,1) <sup>bcd</sup>	466,00 (45,6) <sup>ab</sup>
350	54,00 (13,1) <sup>cd</sup>	472,00 (43,6) <sup>ab</sup>
400	36,00 (6,1) <sup>d</sup>	590,00 (51,7) <sup>a</sup>

Medianas seguidas de letras iguais não diferem estatisticamente ( $p < 0,05$ ) das concentrações do óleo essencial de *O. basilicum* no estágio 3 de anestesia e recuperação.

Quanto a recuperação, foi observado maior tempo necessário para retorno à posição de natação normal em peixes expostos as maiores concentrações ( $y = 0,0002x^2 + 0,8488x + 194,67$ ). No entanto, foi observado que a partir da concentração de 250 mg L<sup>-1</sup> que os tempos de indução e também de recuperação não diferem entre si ( $p > 0,05$ ).

### 5.3 QUALIDADE DE ÁGUA

Antes da realização do experimento de indução anestésica em diferentes temperaturas, os peixes destinados à indução anestésica com temperatura de 23°C foram mantidos nos tanques com temperatura média de 23,19 ± 0,09 °C, oxigênio dissolvido 6,29 ± 0,53 mg L<sup>-1</sup>, pH 7,28 ± 0,19, amônia total 1,04 ± 0,78 mg L<sup>-1</sup>, amônia tóxica 0,003 ± 0,002 mg L<sup>-1</sup> e nitrito 0,54 ± 0,57 mg L<sup>-1</sup>.

Já os peixes utilizados para indução anestésica com temperatura de 27 °C foram mantidos nos tanques com temperatura média de 26,98 ± 0,31 °C, oxigênio dissolvido 6,49 ± 0,18 mg L<sup>-1</sup>, pH 7,27 ± 0,77, amônia total 1,58 ± 1,16 mg L<sup>-1</sup>, amônia tóxica 0,004 ± 0,003 mg L<sup>-1</sup> e nitrito 0,71 ± 0,58 mg L<sup>-1</sup>.

Durante a realização do experimento, as variáveis de qualidade de água nos aquários foram temperatura  $23,00 \pm 0,00$  °C, oxigênio dissolvido  $6,00 \pm 0,00$  mg L<sup>-1</sup> e pH  $7,2 \pm 0,00$  para os peixes submetidos à indução anestésica com temperatura da água a 23 °C. Para indução anestésica com temperatura de 27 °C, a temperatura da água durante o experimento foi de  $27,00 \pm 0,00$  °C, oxigênio dissolvido  $6,65 \pm 0,00$  mg L<sup>-1</sup> e pH  $7,4 \pm 0,00$ . Durante exposição ao óleo essencial de manjeriço a amônia total, amônia tóxica e nitrito não foram identificados na água do experimento.

#### 5.4 PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS

Durante a realização do experimento, foi registrada mortalidade de dois peixes submetidos à indução anestésica com óleo essencial de manjeriço com temperatura da água à 23 °C. Já para temperatura de 27 °C, foi registrada a mortalidade de 10 peixes do grupo submetido à indução anestésica, além de um peixe do grupo controle.

Na avaliação dos valores relativos de leucócitos e absoluto de leucócitos e trombócitos os peixes anestesiados com óleo essencial de manjeriço sob temperatura da água a 23°C apresentaram diferença estatística ( $p < 0,05$ ) apenas no número de neutrófilos. O valor de neutrófilo de peixes submetidos a anestesia diferiu dos grupos controles, apresentando média relativamente menor do que o grupo controle com água, e significativamente maior em comparação com o grupo controle etanol 95% (Tabela 3).

Os demais parâmetros hematológicos avaliados não apresentaram diferença estatística ( $p > 0,05$ ).

Após exposição ao óleo essencial de manjeriço na temperatura de 27 °C, observou-se diferença estatística ( $p < 0,05$ ) no VCM, HCM e no número de eritrócitos entre os peixes submetidos ao anestésico e o grupo controle etanol 95%. Com relação ao VCM, os animais que foram submetidos à indução anestésica com o óleo de manjeriço apresentaram valores significativamente mais elevados do que os animais dos grupos controles água e etanol 95% (Tabela 4). Da mesma forma, observou-se o mesmo padrão em relação ao HCM, onde os valores nos peixes submetidos a indução anestésica foram ligeiramente maiores do que nos dois grupos controles.

Para os eritrócitos, os resultados foram contrários aos de VCM e HCM. Os tratamentos não apresentaram diferença em relação aos grupos controles. Entretanto, o grupo controle com Etanol 95% apresentou a média mais elevada no número de eritrócitos, enquanto que o grupo submetido à indução com o óleo essencial exibiu médias consideravelmente baixas (Tabela 4).

O percentual de hematócrito, CHCM, além dos valores de leucócitos totais e trombócitos, bem como os valores relativos de leucócitos não apresentaram diferença estatística significativa ( $p > 0,05$ ) (Tabela 4).

**Tabela 3** - Parâmetros hematológicos (média  $\pm$  desvio padrão) de tilápias do Nilo submetida à indução anestésica com óleo essencial de *Ocimum basilicum* sob temperatura da água a 23 °C.

Parâmetro	Temperatura 23°C			Valor de p
	Controle	Etanol 95%	<i>O. basilicum</i>	
Hemoglobina (g dL <sup>-1</sup> )	7,66 $\pm$ 0,61	7,81 $\pm$ 1,00	9,10 $\pm$ 2,83	0,2737
Hematócrito (%)	29,29 $\pm$ 2,75	30,29 $\pm$ 3,68	28,37 $\pm$ 3,83	0,4210
VCM (fL)	1,20 $\pm$ 0,24	1,31 $\pm$ 0,22	1,16 $\pm$ 0,22	0,2587
HCM (g dL <sup>-1</sup> )	0,33 $\pm$ 0,07	0,37 $\pm$ 0,10	0,37 $\pm$ 0,12	0,6292
CHCM (g dL <sup>-1</sup> )	27,72 $\pm$ 3,82	26,24 $\pm$ 1,70	32,50 $\pm$ 9,08	0,9803
Eritrócitos (x 10 <sup>6</sup> $\mu$ L <sup>-1</sup> )	2,52 $\pm$ 0,97	2,38 $\pm$ 0,56	2,48 $\pm$ 0,51	0,8632
Leucócitos totais (x 10 <sup>3</sup> $\mu$ L <sup>-1</sup> )	251,92 $\pm$ 43,15	237,85 $\pm$ 56,05	248,67 $\pm$ 51,55	0,7745
Trombócitos (x 10 <sup>3</sup> $\mu$ L <sup>-1</sup> )	35,23 $\pm$ 14,48	29,97 $\pm$ 14,51	31,08 $\pm$ 16,10	0,7885
Linfócitos (x 10 <sup>3</sup> $\mu$ L <sup>-1</sup> )	206,02 $\pm$ 40,81	196,95 $\pm$ 52,25	196,40 $\pm$ 40,73	0,9221
Monócitos (x 10 <sup>3</sup> $\mu$ L <sup>-1</sup> )	20,17 $\pm$ 13,34	29,15 $\pm$ 18,60	25,24 $\pm$ 16,71	0,2898
Neutrófilos (x 10 <sup>3</sup> $\mu$ L <sup>-1</sup> )	20,10 $\pm$ 9,80 <sup>b</sup>	7,95 $\pm$ 1,34 <sup>b</sup>	19,76 $\pm$ 15,68 <sup>a</sup>	0,00
Basófilos (x 10 <sup>3</sup> $\mu$ L <sup>-1</sup> )	5,59 $\pm$ 3,12	2,27 $\pm$ 0,84	5,87 $\pm$ 6,68	0,3592

VCM – volume corpuscular médio, HCM – hemoglobina corpuscular média, CHCM – concentração de hemoglobina corpuscular média ( $p < 0,05$ ).

**Tabela 4** - Parâmetros hematológicos (média  $\pm$  desvio padrão) de tilápias do Nilo submetida à indução anestésica com óleo essencial de *Ocimum basilicum* sob temperatura da água à 27 °C.

Parâmetro	Temperatura 27°C			Valor de p
	Controle	Etanol 95%	<i>O. basilicum</i>	
Hemoglobina (g dL <sup>-1</sup> )	7,55 $\pm$ 1,33	7,46 $\pm$ 0,71	7,57 $\pm$ 1,29	0,9828
Hematócrito (%)	25,83 $\pm$ 1,21	26,79 $\pm$ 2,83	27,08 $\pm$ 4,60	0,7922
VCM (fL)	1,41 $\pm$ 0,47 <sup>ab</sup>	1,12 $\pm$ 0,15 <sup>b</sup>	1,68 $\pm$ 0,13 <sup>a</sup>	0,0493
HCM (g dL <sup>-1</sup> )	0,39 $\pm$ 0,09 <sup>ab</sup>	0,32 $\pm$ 0,07 <sup>b</sup>	0,46 $\pm$ 0,13 <sup>a</sup>	0,0196
CHCM (g dL <sup>-1</sup> )	29,34 $\pm$ 5,71	28,13 $\pm$ 4,21	27,89 $\pm$ 5,34	0,8259
Eritrócitos (x 10 <sup>6</sup> $\mu$ L <sup>-1</sup> )	2,06 $\pm$ 0,80 <sup>ab</sup>	2,42 $\pm$ 0,35 <sup>a</sup>	1,76 $\pm$ 0,48 <sup>b</sup>	0,0198
Leucócitos totais (x 10 <sup>3</sup> $\mu$ L <sup>-1</sup> )	205,83 $\pm$ 80,43	242,41 $\pm$ 35,93	176,17 $\pm$ 49,76	0,9828
Trombócitos (x 10 <sup>3</sup> $\mu$ L <sup>-1</sup> )	32,76 $\pm$ 19,68	36,31 $\pm$ 25,76	22,39 $\pm$ 13,42	0,1299
Linfócitos (x 10 <sup>3</sup> $\mu$ L <sup>-1</sup> )	165,59 $\pm$ 60,46	202,66 $\pm$ 41,76	146,49 $\pm$ 38,64	0,2165
Monócitos (x 10 <sup>3</sup> $\mu$ L <sup>-1</sup> )	18,60 $\pm$ 8,10	27,16 $\pm$ 11,08	19,25 $\pm$ 14,81	0,2469
Neutrófilos (x 10 <sup>3</sup> $\mu$ L <sup>-1</sup> )	13,97 $\pm$ 13,47	9,09 $\pm$ 5,57	7,12 $\pm$ 5,81	0,3198
Basófilos (x 10 <sup>3</sup> $\mu$ L <sup>-1</sup> )	7,66 $\pm$ 9,55	3,29 $\pm$ 3,62	4,60 $\pm$ 4,85	0,6909

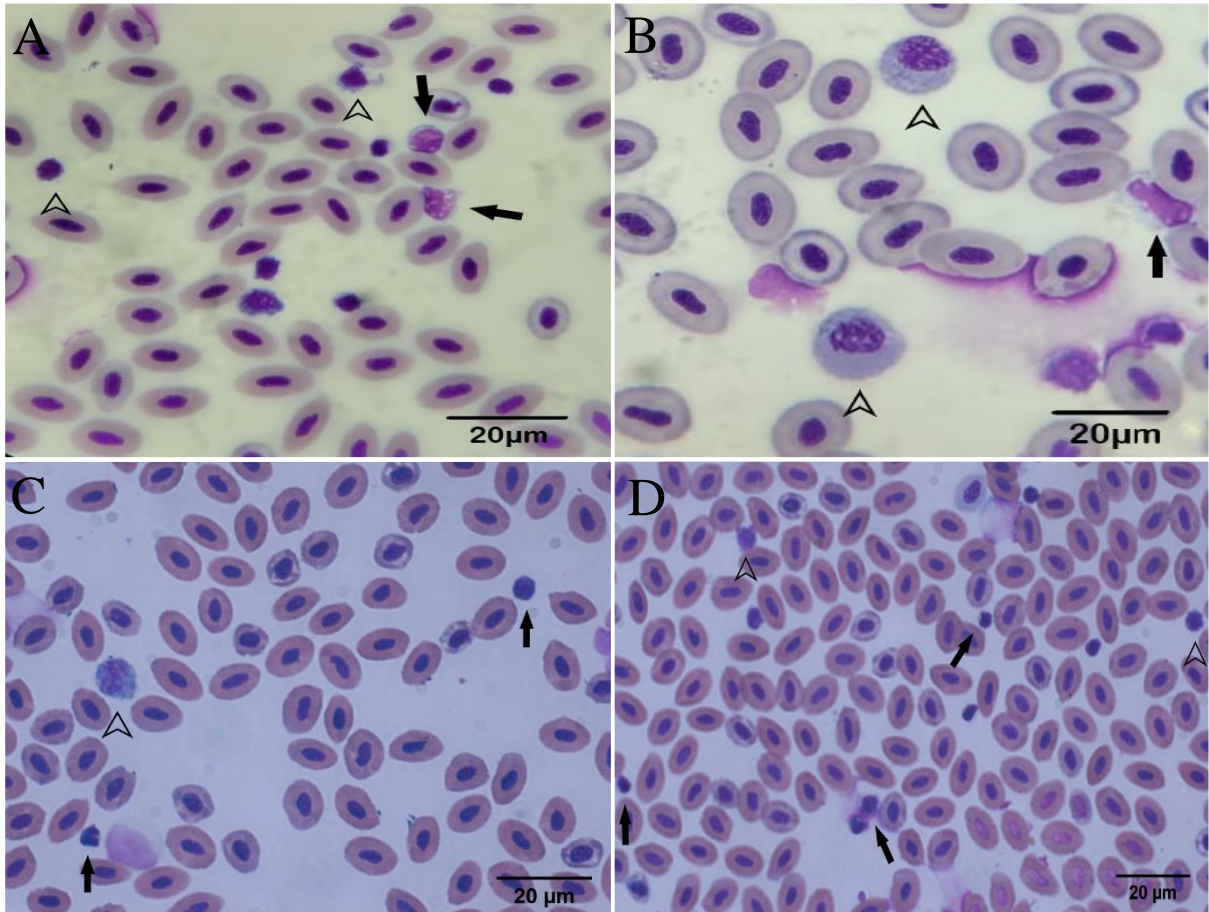
VCM – volume corpuscular médio, HCM – hemoglobina corpuscular média, CHCM – concentração de hemoglobina corpuscular média (p<0,05).

Todos os tipos celulares encontrados no sangue de tilápia do Nilo avaliadas no presente estudo são mostrados na Figura 1.

Na avaliação bioquímica dos íons plasmáticos cloreto e cálcio total para a temperatura de 23 °C não houve diferença significativa (p>0,05) entre os tratamentos testados. No entanto, uma menor atividade do íon cloreto foi obtida para esta temperatura (Tabela 5).

Para a temperatura de 27 °C o íon cálcio apresentou diferença estatística (p<0,05) nos exemplares de tilápia do Nilo (*O. niloticus*) entre os controles com água e etanol 95%. Já a determinação de cloreto a esta temperatura não houve diferença significativa (p>0,05) (Tabela 5).

**Figura 1.** Células do sangue de *O. niloticus*. A: Presença de monócitos (setas sólidas) e linfócitos (setas vazadas); B: Neutrófilos (setas vazadas) e monócito (seta sólida); C: Basófilo (seta vazada) e linfócitos (setas sólidas); D: Linfócitos (setas vazadas) e trombócitos (setas sólidas).



Fonte: Autor (2023).

**Tabela 5** - Avaliação bioquímica dos íons cloreto e cálcio (média  $\pm$  desvio padrão) de tilápia do Nilo submetida à indução anestésica com óleo essencial de *Ocimum basilicum* sob temperatura da água à 23 e 27 °C.

Tratamentos	Temperatura 23°C		Temperatura 27°C	
	Cl <sup>-</sup> (mEq L <sup>-1</sup> )	Ca <sup>2+</sup> (mg dL <sup>-1</sup> )	Cl <sup>-</sup> (mEq L <sup>-1</sup> )	Ca <sup>2+</sup> (mg dL <sup>-1</sup> )
Controle	116,44 $\pm$ 7,31	3,21 $\pm$ 0,06	108,97 $\pm$ 27,17	2,40 $\pm$ 0,08 <sup>a</sup>
Etanol 95%	117,25 $\pm$ 7,03	3,19 $\pm$ 0,06	124,32 $\pm$ 14,72	2,66 $\pm$ 0,31 <sup>b</sup>
<i>O. basilicum</i>	105,16 $\pm$ 16,81	3,20 $\pm$ 0,20	104,45 $\pm$ 21,40	2,48 $\pm$ 0,15 <sup>ab</sup>

Cl<sup>-</sup> - íon cloreto, Ca<sup>2+</sup> - íon cálcio (p<0,05). \*Diferença estatística demonstrada com letras na mesma coluna.

## 6 DISCUSSÃO

Os óleos essenciais são considerados combinações complexas, compostas por diversas substâncias químicas orgânicas, que podem ter a composição de seus constituintes influenciada por diversos fatores (ABDOUL-LATIF et al., 2022). Os compostos metil chavicol e linalol foram identificados a partir da análise química como principais constituintes do óleo essencial de manjeriço. Confirmando este resultado, Oliveira, Moreira, Oliveira (2013), Ventura et al. (2020) e Yigit et al. (2022) observaram a presença majoritária de ambos os compostos no óleo essencial de *O. basilicum* cultivado no Brasil. Além disso, Costa et al. (2015), reportaram a presença majoritária destes compostos, além de outros componentes, em 38 genótipos de manjeriços cultivados nos Estados Unidos.

A presença predominante destes compostos é responsável pela eficácia da atividade anestésica em peixes (HELDWEIN et al., 2014). Khumpirapang et al. (2018), avaliaram que a presença majoritária do metil chavicol em *O. basilicum* foi capaz de bloquear o estado de agitação dos peixes, promovendo assim o estágio anestésico. Heldwein et al. (2014) sugeriram que a presença de linalol em óleos essenciais atua como atividade depressora no sistema nervoso central, induzindo o estágio de sedação em baixas concentrações e de anestesia em altas concentrações.

A eficácia ideal de um anestésico para peixes está relacionada ao rápido período de indução, inferior a 180 segundos, e a uma rápida recuperação, menor que 300 segundos (ROSS; ROSS, 2008; ANANIAS et al., 2022). Com base nisso, o presente estudo observou que as concentrações adequadas para indução anestésica em juvenis de tilápia do Nilo estão entre 100 e 250 mg L<sup>-1</sup> do óleo essencial de manjeriço. Estudos conduzidos com tambacu (*Piaractus mesopotamicus* macho e *Colossoma macropomum* fêmea) (LIMMA-NETTO et al., 2016) corroboram essas avaliações, pois a exposição ao mesmo anestésico demonstrou induzir o estado de anestesia nesta espécie em concentrações superiores a 100 µL L<sup>-1</sup>.

Contudo, neste estudo notou-se que à medida em que houve o aumento das concentrações, ocorreu uma tendência de redução no tempo necessário para indução anestésica e prolongamento no tempo de recuperação. Essa tendência foi observada em diferentes espécies pertencentes ao gênero *Ocimum*, como em surubim (*Pseudoplatystoma reticulatum*) anestesiado com óleo essencial de manjeriço-cravo (*Ocimum gratissimum*) (SILVA et al., 2020), e para as espécies tilápia do Nilo (RUCINQUE et al., 2021) e jundiá (*Rhamdia quelen*) (SILVA et al., 2015) anestesiados com óleo essencial de *Ocimum americanum*. Essa característica ocorre com diversos óleos essenciais, como no óleo de cravo utilizado em

linguado (*Psetta maxima*) (AYDIN et al., 2015), mentol em pacamã (*Lophiosilurus alexandri*) (ANANIAS et al., 2022) e orégano e eucalipto utilizados como anestésicos em robalo (*Dicentrarchus labrax*) e corvina-legítima (*Argyrosomus regius*), respectivamente (BODUR et al., 2018).

Os peixes sofrem variações hematológicas devida à influência de fatores como temperatura, pH, salinidade e oxigênio dissolvido. Além disso, o uso de anestésicos também pode influenciar os parâmetros hematológicos, resultando em situações estressantes aos animais (RANZANI-PAIVA et al., 2013). Em relação aos parâmetros hematimétricos, a exposição de tilápia do Nilo ao óleo essencial de manjerição proporcionou aumento no valor de hemoglobina para ambas as temperaturas, em comparação aos peixes do grupo controle água e etanol 95%, não apresentando diferença estatística ( $p > 0,05$ ). O mesmo pode ser observado em tambacu (*Piaractus mesopotamicus*) (VENTURA et al., 2021b) e abrotea (*Urophycis brasiliensis*) (BOLASINA, 2006), anestesiados com *O. basilicum* e benzocaína, respectivamente.

Entretanto, a temperatura de 27 °C ocasionou incremento na média do percentual de hematócrito, porém não demonstrando diferença significativa ( $p > 0,05$ ). A espécie pacamã (*Lophiosilurus alexandri*) após indução anestésica com o óleo essencial de *O. gratissimum* sob temperatura da água a 26,9 °C (BOAVNTURA et al., 2020) e enguia (*Anguilla anguilla*) após indução anestésica com óleo de cravo sob temperatura de 27 °C (ALTUN; HUNT; USTA, 2006), apresentaram elevação no percentual de hematócrito, assim como no presente resultado. Apesar de não apresentar diferença estatística ( $p > 0,05$ ), a diminuição no percentual de hematócrito foi observada na temperatura 23 °C, assim como reportado por Gressler et al. (2015) em jundiá anestesiados com propofol sob temperatura de 21,8 °C. A elevação do percentual de hematócrito pode ser relacionado à diminuição da frequência ventilatória e ao estado de hipóxia induzido pela anestesia (HILL; FORSTER, 2004).

Neste estudo, a indução anestésica em tilápia do Nilo apresentou respostas distintas para os parâmetros VCM, HCM e CHCM entre os grupos submetidos a diferentes temperaturas. O aumento nos parâmetros VCM e HCM, e redução no CHCM foi observado no grupo submetido a indução anestésica em temperatura de 27 °C, enquanto que o mesmo grupo à temperatura de 23°C apresentou menor resultado para VCM e maior para CHCM. Tambaquis acondicionados à temperatura de 29,6 °C anestesiados com óleo de cravo e bezocaína (PÁDUA et al., 2013) apresentaram a tendência observada no presente estudo. Semelhante a isso, Gholipourkanani e Ahadizadeh (2013), relataram que kinguios (*Carassius auratus*) anestesiados com propofol e óleo de cravo a temperatura de 22 °C expressaram aumento no valor de VCM ao uso do anestésico sintético e redução de CHCM na indução com anestésico



natural. O mesmo padrão foi observado por Hoseini et al. (2021) com truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) anestesiadas com citronelal a temperatura de 14,2 °C.

Os eritrócitos são as células mais abundantes nos peixes. A variação na contagem dessas células pode influenciar a taxa metabólica e os parâmetros hematológicos dos peixes (WITESKA, 2013). No presente estudo, o decréscimo no número de eritrócitos foi observado na maior temperatura utilizada, enquanto que para a menor temperatura não houve diferença entre os tratamentos testados. Esse fato pode explicar as mortalidades observadas durante o procedimento de indução anestésica realizado à temperatura de 27 °C. O óleo essencial de manjeriço em conjunto com a elevação da temperatura pode ter ocasionado um desequilíbrio no sistema imunológico do animal causando estas mortalidades. Semelhante ao presente resultado, tilápia do Nilo (*O. niloticus*) anestesiadas com óleo essencial de alecrim-pimenta (*Lippia sidoides*) sob temperatura de 27,67 °C também apresentaram redução no número de eritrócitos (HASHIMOTO et al., 2016). Os anestésicos tendem a induzir o aumento no número de eritrócitos, como em tilápia do Nilo (*O. niloticus*) anestesiada com timol (2-isopropil-5-metilfenol) e eugenol (YOUSEFI et al., 2022), e com propofol e eugenol (ZHRAN; RISHA; RIZK, 2021), diferindo do encontrado no presente estudo.

Com relação aos valores relativos de leucócitos, o óleo essencial de manjeriço apresentou influência sobre o aumento do número de neutrófilos sob temperatura de 23 °C, diferentemente do observado em 27 °C. Os neutrófilos são células fagocíticas que atuam na defesa do organismo do hospedeiro (WITESKA et al., 2022). O aumento no número destas células em tilápia do Nilo, quando submetida à administração de anestésicos, pode estar relacionado a um desequilíbrio na homeostase, à medida que o animal tenta restaurar a condição normal. Ventura et al. (2021b) demonstrou que juvenis de pacu (*Piaractus mesopotamicus*) anestesiados com o mesmo óleo essencial sob temperatura de 26,4 °C também não apresentaram incremento nos valores de neutrófilos. Essa tendência também foi observada com os óleos essenciais de malaleuca e cravo à temperatura de 28 °C (SANTOS; REZENDE; MORON, 2020), bem como em peixes submetidos à anestesia com *O. gratissimum* e *Z. officinale* com temperatura de 26,3 °C (SILVA et al., 2020).

A exposição ao óleo de manjeriço resultou em redução na média da contagem total de leucócitos para a temperatura de 27 °C, no entanto, sem apresentar diferença estatística ( $p > 0,05$ ). Resultados semelhantes foram obtidos em truta arco-íris anestesiadas com cineole (1,8-cineole) (TAHERI-MIRGHAED et al., 2018) e surubim (*Pseudoplatystoma reticulatum*) anestesiado com gengibre (*Zingiber officinale*) (SILVA et al., 2020). É possível observar que a redução nos valores de leucócitos totais pode ocorrer independente da temperatura utilizada,

porém os valores tendem a reduzir conforme ocorre o aumento da concentração do anestésico utilizado. No entanto, essa diminuição pode ser associada a uma supressão do sistema imunológico dos peixes quando submetidos ao estresse ocasionado pela exposição ao anestésico (RANZANI-PAIVA et al., 2013; VENTURA et al., 2021b).

Em peixes, os linfócitos desempenham importante papel em processos inflamatórios e em respostas humorais mediadas por células em diversas situações (JERÔNIMO et al., 2011). A combinação do óleo essencial de manjerição com a elevação da temperatura culminou na redução na média dos valores de linfócitos, diferentemente do observado para a temperatura mais baixa, porém sem haver diferença estatística ( $p > 0,05$ ) entre os grupos testados. Santos, Rezende e Moron (2020) avaliaram que tambaquis anestesiados com os óleos de cravo e melaleuca em temperatura de 28 °C não apresentaram diferença entre os tratamentos testados. Já Ventura et al. (2021b), observou que pacus anestesiados sob temperatura entre 26,4 °C com óleo de manjerição apresentou redução nos valores de linfócitos diante de concentrações mais elevadas do anestésico. Pode-se sugerir que a relação entre elevadas temperaturas e a utilização de manjerição como anestésico podem causar linfopenia, ou seja, redução do número de linfócitos no sangue, causando condição de imunossupressão nos peixes (SILVA et al., 2012).

Em ambas as temperaturas testadas, os valores de monócito e basófilo não demonstraram diferença significativa. Os peixes anestesiados e os grupos controle apresentaram valores semelhantes, apontando que o óleo essencial de manjerição não induziu o desequilíbrio nessas células de defesa. O mesmo foi relatado para tilápi do Nilo (ZAHARAN; RISHA; RIZK, 2021) e *C. auratus* (GHOLIPOURKANANI; AHADIZADEH, 2013) anestesiada com propofol. Pádua et al. (2013) relataram o aumento os valores de monócitos em tambaquis anestesiados com óleo de cravo e benzocaína, esse fato pode ser relacionado ao desequilíbrio homeostático causado pelos anestésicos. Pacus anestesiados com o mesmo óleo essencial também não apresentou diferença (VENTURA et al., 2021b), bem como em tambaqui anestesiado com melaleuca e cravo (SANTOS; REZENDE; MORON, 2020).

No presente estudo, os íons cloreto não apresentaram diferença estatística entre os tratamentos ( $p > 0,05$ ) para ambas as temperaturas avaliadas. A utilização do óleo essencial de manjerição proporcionou diferença estatística ( $p < 0,05$ ) do íon cálcio para a temperatura de 27 °C, no entanto, o grupo submetido à indução não diferiu dos grupos controles, porém os grupos controles água e etanol 95% diferiram entre si. Resultados diferentes foram observados em truta arco-íris anestesiadas com 1,8-cineol à temperatura de 14,6 °C, onde não houve diferença entre os tratamentos testados (TAHERI-MIRGHAED et al., 2018). Em tilápia do nilo (*O. niloticus*) observou-se que o óleo essencial de manjerição preveniu o efluxo dos íons cloreto e cálcio

durante a realização do experimento. Distúrbios osmorregulatórios tendem a causar estresse em peixes, levando à redução dos níveis iônicos diante de condições estressantes. Como resposta a essas condições, os animais tendem a aumentar o fluxo sanguíneo nas brânquias e a permeabilidade paracelular resultando na redução dos íons plasmáticos (BECKER et al., 2012).

## 7 CONCLUSÃO

A avaliação da utilização do óleo essencial de manjerição em diferentes temperaturas proporcionou resultados ainda pouco encontrados na literatura. O óleo essencial de manjerição provocou impacto significativo na redução dos valores dos índices hematimétricos, incluindo volume corpuscular médio e hemoglobina corpuscular média, assim como no número de eritrócitos durante exposição dos peixes a temperatura da água de 27 °C. Adicionalmente, frente ao do estresse ocasionado pela exposição ao óleo, é propensa a ocorrer um desequilíbrio nos eletrólitos plasmáticos, resultando em distúrbios osmorregulatórios. Esses resultados sugerem que a indução anestésica com óleo essencial de manjerição a essa temperatura pode desequilibrar o sistema osmorregulatório, comprometendo o sistema de defesa do animal e tornando-o mais suscetível a desequilíbrios ambientais.

Diante da temperatura de 23 °C avaliada neste estudo, os parâmetros hematológicos e bioquímicos apresentaram menores variações, com tendência a melhor equilíbrio entre o ambiente e o sistema osmorregulatório do peixe. A tilápia do Nilo, utilizada para a realização do experimento é capaz de se adaptar a diversos tipos de ambientes. Esse fato mostra que a temperatura mais baixa pode desencadear melhores respostas hematológicas quanto a exposição ao óleo.

Portanto, o óleo essencial de manjerição apresenta efeito anestésico positivo, no entanto, esse resultado indica que a utilização do óleo essencial em conjunto com temperaturas mais baixas proporciona menores alterações hematológicas na espécie.

## REFERÊNCIAS

- ABDOUL-LATIF, F. M. et al. Essential oils of *Ocimum basilicum* L. and *Ocimum americanum* L. from Djibouti: Chemical composition, antimicrobial and cytotoxicity evaluations. **Processes**, v. 10, n. 9, p. 1785, 2022.
- AFEWERKI, S. et al. Innovation policy in the Norwegian aquaculture industry: Reshaping aquaculture production innovation networks. **Marine Policy**, v. 152, p. 105624, 2023.
- AHMAD, A. et al. Aquaculture industry: Supply and demand, best practices, effluent and its current issues and treatment technology. **Journal of Environmental Management**, v. 287, p. 112271, 2021.
- ALTUN, T.; HUNT, A. Ö.; USTA, F. Effects of clove oil and eugenol on anaesthesia and some hematological parameters of European eel *Anguilla anguilla*, L., 1758. **Journal of Applied Animal Research**, v. 30, n. 2, p. 171-176, 2006.
- AMIRKHANI, N.; FIROUZBAKHSI, F. Protective effects of basil (*Ocimum basilicum*) ethanolic extract supplementation diets against experimental *Aeromonas hydrophila* infection in common carp (*Cyprinus carpio*). **Aquaculture Research**, v. 46, n. 3, p. 716-724, 2015.
- ANANIAS, I. 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.
- ARAÚJO, D. M. et al. Hematologia de tilápias-do-nilo alimentadas com dietas com óleos vegetais e estimuladas pelo frio. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 46, n. 3, p. 294-302, 2011.
- 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, 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.
- AYDIN, İ. et al. Effects of temperature, fish size and dosage of clove oil on anaesthesia in turbot (*Psetta maxima* Linnaeus, 1758). **Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v. 15, n. 4, p. 899-904, 2015.
- AZIZ, Z. A. A et al. Essential oils: extraction techniques, pharmaceutical and therapeutic potential-a review. **Current Drug Metabolism**, v. 19, n. 13, p. 1100-1110, 2018.
- BARBAS, L. A. L. et al. Essential oil of citronella modulates electrophysiological responses in tambaqui *Colossoma macropomum*: a new anaesthetic for use in fish. **Aquaculture**, v. 479, p. 60-68, 2017.
- BECKER, A. G. et al. Can the essential oil of *Aloysia triphylla* have anesthetic effect and improve the physiological parameters of the carnivorous freshwater catfish *Lophiosilurus alexandri* after transport? **Aquaculture**, v. 481, p. 184-190, 2017.

BECKER, A. G. et al. Transportation of silver catfish, *Rhamdia quelen*, in water with eugenol and the essential oil of *Lippia alba*. **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 38, p. 789-796, 2012.

BELTRÁN-NOBOA, A. et al. Metabolomic profile and computational analysis for the identification of the potential anti-inflammatory mechanisms of action of the traditional medicinal plants *Ocimum basilicum* and *Ocimum tenuiflorum*. **Food and Chemical Toxicology**, v. 164, p. 113039, 2022.

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.

BLAXHALL, P. C.; DAISLEY, K. W. Routine haematological methods for use with fish blood. **Journal of fish biology**, v. 5, n. 6, p. 771-781, 1973.

BOAVENTURA, T. P. et al. Essential oil of *Ocimum gratissimum* (Linnaeus, 1753) as anesthetic for *Lophiosilurus alexandri*: induction, recovery, hematology, biochemistry and oxidative stress. **Aquaculture**, v. 529, p. 735676, 2020.

BODUR, T. et al. Assessment of effective dose of new herbal anesthetics in two marine aquaculture species: *Dicentrarchus labrax* and *Argyrosomus regius*. **Aquaculture**, v. 482, p. 78-82, 2018.

BOLASINA, Sergio Néstor. Cortisol and hematological response in Brazilian codling, *Urophycis brasiliensis* (Pisces, Phycidae) subjected to anesthetic treatment. **Aquaculture International**, v. 14, p. 569-575, 2006.

BURGOS-ACEVES, M. A.; LIONETTI, L.; FAGGIO, C. Multidisciplinary haematology as prognostic device in environmental and xenobiotic stress-induced response in fish. **Science of The Total Environment**, v. 670, p. 1170-1183, 2019.

CAPPARUCCI, F. et al. Evaluation of anaesthetic effect of commercial basil *Ocimum basilicum* on zebrafish (*Danio rerio*) embryos. **Fishes**, v. 7, n. 6, p. 318, 2022.

COSTA, A. S. et al. Chemical diversity in basil (*Ocimum* sp.) germplasm. **The Scientific World Journal**, v. 2015, p. 1-9, 2015.

COYLE, S. D.; DURBOROW, R. M.; TIDWELL, J. H. Anesthetics in aquaculture. **Southern Regional Aquaculture Center**, p. 1-6, 2004.

DEY, B. K. et al. Effect of temperature on the energy utilization efficiencies of digested protein, fat, and carbohydrates in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Aquaculture**, v. 576, p. 739876, 2023.

FAO. **The State of World Fisheries and Aquaculture 2022**. Towards Blue Transformation. 2022.

FAO. **Fishery and Aquaculture Statistics**. Global aquaculture production 1950-2021 (FishStatJ). In: FAO Fisheries and Aquaculture Division [online]. Rome. Updated 2023. [www.fao.org/fishery/en/statistics/software/fishstatj](http://www.fao.org/fishery/en/statistics/software/fishstatj)

FREIRE, M. V. C. et al. Transporte de organismos aquáticos: procedimento fundamental para desenvolvimento da aquicultura. **Pubvet**, v. 13, n. 10, p. 1-10, 2019.

GHOLOPOURKANANI, H.; AHADIZADEH, S. Use of propofol as an anesthetic and its efficacy on some hematological values of ornamental fish *Carassius auratus*. **SpringerPlus**, v. 2, p. 1-5, 2013.

GOMES, D. P. et al. Water parameters affect anaesthesia induced by eugenol in silver catfish, *Rhamdia quelen*. **Aquaculture Research**, v. 42, n. 6, p. 878-886, 2011.

GONÇALVES, A. F. N. et al. Mentol e eugenol como substitutos da benzocaína na indução anestésica de juvenis de pacu. **Acta Scientiarum Animal Sciences**, v. 30, n. 3, p. 339-344, 2008.

GRESSLER, L. T. et al. Hematological, morphological, biochemical and hydromineral responses in *Rhamdia quelen* sedated with propofol. **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 41, p. 463-472, 2015.

GURKAN, H.; HAYALOGLU, A. A. Changes in volatiles and essential oil composition of three organs (leaf, stem and flower) of purple basil (*Ocimum basilicum* L.) by GC-MS combined with multivariate statistical approach. **Food Chemistry Advances**, v. 2, p. 100292, 2023.

HASHIMOTO, G. S. O. et al. Essential oils of *Lippia sidoides* and *Mentha piperita* against monogenean parasites and their influence on the hematology of Nile tilapia. **Aquaculture**, v. 450, p. 182-186, 2016.

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

HILL, J. V.; FORSTER, M. E. Cardiovascular responses of Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) during rapid anaesthetic induction and recovery. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology**, v. 137, n. 2, p. 167-177, 2004.

HOSEINI, S. M. et al. Anesthesia of rainbow trout with citronellal: Efficacy and biochemical effects. **Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological and Integrative Physiology**, v. 337, n. 3, p. 227-237, 2021.

HUSEN, A.; SHARMA, S. Efficacy of anesthetics for reducing stress in fish during aquaculture practices-a review. **Journal of Science, Engineering and Technology**, v. 10, n. 1, p. 104-123, 2014.

JERÔNIMO, G. T. et al. Seasonal influence on the hematological parameters in cultured Nile tilapia from southern Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, v. 71, n. 3, p. 719-725, 2011.

- KHOLIYA, S. et al. Essential oil yield and composition of *Ocimum basilicum* L. at different phenological stages, plant density and post-harvest drying methods. **South African Journal of Botany**, v. 151, p. 919-925, 2022.
- KHUMPIRAPANG, Nattae et al. Anesthetic activity of plant essential oils on *Cyprinus carpio* (koi carp). **Drug discoveries & therapeutics**, v. 12, n. 1, p. 21-30, 2018.
- LIMMA-NETTO, J. D.; OLIVEIRA, R. S. M.; COPATTI, C. E. Efficiency of essential oils of *Ocimum basilicum* and *Cymbopogon flexuosus* in the sedation and anaesthesia of Nile tilapia juveniles. **Anais da Academia Brasileira de Ciencias**, v. 89, n. 4, p. 2971-2974, 2017.
- LIMMA-NETTO, J. D.; SENA, A. C.; COPATTI, C. E. Óleos essenciais de *Ocimum basilicum* e *Cymbopogon flexuosus* na sedação, anestesia e recuperação de tambacu (*Piaractus mesopotamicus* macho x *Colossoma macropomum* fêmea). **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 42, n. 3, p. 727-733, 2016.
- MARTINS, A. G. L. A. et al. Atividade antibacteriana do óleo essencial do manjeriço frente a sorogrupos de *Escherichia coli* enteropatogênica isolados de alfaces. **Ciência Rural**, v. 40, n. 48, p. 1791-1796, 2010.
- MEDEIROS-JUNIOR, E. F.; BRITO, O. S. uso de anestésicos na aquicultura como prática de manejo e os fatores que interferem na anestesia. In: Carlos Alberto Martins CORDEIRO, C. A. M.; DIONISO, S. S.; HOLANDA, F. C. A. F. **Engenharia de Pesca: aspectos teóricos e práticos-volume 2**, v. 2, n. 1, p. 216-228, 2021.
- MYLONAS, C. C. et al. Comparative efficacy of clove oil and 2-phenoxyethanol as anesthetics in the aquaculture of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and gilthead sea bream (*Sparus aurata*) at different temperatures. **Aquaculture**, v. 246, n. 1-4, p. 467-481, 2005.
- OLIVEIRA, R. A.; MOREIRA, I. S.; OLIVEIRA, F. F. Linalool and methyl chavicol present basil (*Ocimum* sp.) cultivated in Brazil. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 15, p. 309-311, 2013.
- PÁDUA, S. B. et al. Hematologic variables in tambaquis anesthetized with clove oil and benzocaine. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 48, n. 8, p. 1171-1174, 2013.
- PRAVUSCHI, P. R. et al. Efeito de diferentes lâminas de irrigação na produção de óleo essencial do manjeriço (*Ocimum basilicum* L.). **Acta Scientiarum Agronomy**, v. 32, n. 4, p. 687-693, 2010.
- PRIBORSKY, J.; VELISEK, J. A Review of Three Commonly Used Fish Anesthetics. **Reviews in Fisheries Science and Aquaculture**. v. 26, n. 4, p. 417-442, 2018.
- 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.
- RANZANI-PAIVA, M.J.T. et al. **Métodos para análise hematológica em peixes**. Maringá: Eduem, 2013. p.135.



- ROOHI, Z.; IMANPOOR, M. R. The efficacy of the oils of spearmint and methyl salicylate as new anesthetics and their effect on glucose levels in common carp (*Cyprinus carpio* L., 1758) juveniles. **Aquaculture**, v. 437, p. 327-332, 2015.
- ROSS, L. G.; ROSS, B. Anaesthesia of amphibians and reptiles. **Anaesthetic and Sedative Techniques for Aquatic Animals**, 3rd ed. Wiley-Blackwell, p. 179-190, 2008.
- ROŻYŃSKI, M. et al. Impact of inducing general anesthesia with Propiscin (etomidate) on the physiology and health of European perch (*Perca fluviatilis* L.). **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 44, p. 927-937, 2018.
- RUCINQUE, D. S. et al. *Ocimum americanum* and *Lippia alba* essential oils as anaesthetics for Nile tilapia: Induction, recovery of apparent unconsciousness and sensory analysis of filets. **Aquaculture**, v. 531, p. 735902, 2021.
- 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.
- SILVA, L. A. et al. Essential oils of *Ocimum gratissimum* and *Zingiber officinale* as anesthetics for the South American catfish *Pseudoplatystoma reticulatum*. **Aquaculture**, v. 528, p. 735595, 2020.
- SILVA, L. 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, 2015.
- 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, 2015.
- SILVA, R. D. et al. Parâmetros hematológicos e bioquímicos da tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus* L.) sob estresse por exposição ao ar. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 32, p. 99-107, 2012.
- SIMÕES, L. N. et al. Efficacy of clove oil as anesthetic in handling and transportation of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (Actinopterygii: Cichlidae) juveniles. **Zoologia**, v. 28, n. 3, p. 285-290, 2011.
- SNEDDON, L. U. Clinical anesthesia and analgesia in fish. **Journal of Exotic Pet Medicine**, v. 21, p. 32-43, 2012.
- SOUZA, E. M. et al. Evaluation of the effects of *Ocimum basilicum* essential oil in Nile tilapia diet: growth, biochemical, intestinal enzymes, haematology, lysozyme and antimicrobial challenges. **Aquaculture**, v. 504, p. 7-12, 2019.
- 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.

- SUÁREZ-PUERTO, B.; ARANEDA, M.; GULLIAN-KLANIAN, M. Bioeconomic analysis of the commercial production of Nile tilapia with biofloc and green water technologies. **Aquaculture and Fisheries**, 2023.
- TAHERI-MIRGHAED, Ali et al. Anaesthetic efficacy and biochemical effects of 1, 8-cineole in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum, 1792). **Aquaculture Research**, v. 49, n. 6, p. 2156-2165, 2018.
- TAVARES-DIAS, M.; OLIVEIRA, S. R. A review of the blood coagulation system of fish. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 7, n. 2, p. 205-224, 2009.
- VENTURA, A. S. et al. Natural anesthetics in the transport of Nile tilapia: Hematological and biochemical responses and residual concentration in the fillet. **Aquaculture**, v. 526, p. 735365, 2020.
- VENTURA, A. S. et al. *Ocimum basilicum* essential oil as an anesthetic for tambaqui *Colossoma macropomum*: Hematological, biochemical, non-specific immune parameters and energy metabolism. **Aquaculture**, v. 533, p. 736124, 2021a.
- 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 Sciences**, v. 14, n. 1, p. 51-60, 2019.
- VENTURA, A. S. et al. Thermal dynamics and physiological implications in pacu *Piaractus mesopotamicus* anaesthetised with *Ocimum basilicum* essential oil. **International Aquatic Research**, v. 13, n. 4, p. 261-270, 2021b.
- WITESKA, M. Erythrocytes in teleost fishes: a review. **Zoology and Ecology**, v. 23, n. 4, p. 275-281, 2013.
- WITESKA, M. et al. Hematological methods in fish—Not only for beginners. **Aquaculture**, v. 547, p. 737498, 2022.
- WOODY, C. A.; NELSON, J.; RAMSTAD, K. Clove oil as an anaesthetic for adult sockeye salmon: Field trials. **Journal of Fish Biology**, v. 60, n. 2, p. 340-347, 2002.
- 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.
- YOUSEFI, M. et al. Anesthetic efficacy and hemato-biochemical effects of thymol on juvenile Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Aquaculture**, v. 547, p. 737540, 2022.
- ZAHL, I. H. et al. Anaesthesia of Atlantic cod (*Gadus morhua*) - effect of pre-anaesthetic sedation, and importance of body weight, temperature and stress. **Aquaculture**, v. 295, n. 1-2, p. 52-59, 2009.
- ZAHL, I. H. et al. Anaesthesia of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) Effect of pre-anaesthetic sedation, and importance of body weight and water temperature. **Aquaculture Research**, v. 42, n. 9, p. 1235-1245, 2011.

ZAHL, I. H.; SAMUELSEN, O.; KIESSLING, A. Anesthesia of farmed fish: implications for welfare. **Fish Physiol Biochem**, v. 38, p. 201-208, 2012.

ZAHRAN, E.; RISHA, E.; RIZK, A. Comparison propofol and eugenol anesthetics efficacy and effects on general health in Nile Tilapia. **Aquaculture**, v. 534, p. 736251, 2021.