

Biomarcadores hematológicos em tilápia: Efeito das concentrações residuais do óleo de cravo e do florfenicol



<https://doi.org/10.56238/sevened2023.007-080>

Júlia Lourenço do Nascimento

Graduanda em Tecnologia em Processos Químicos, FATEC, Campinas-SP;
E-mail: nascimento.julia.99@gmail.com

Marcia Mayumi Ishikawa

Pesquisador da Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna-SP;
E-mail: marcia.ishikawa@embrapa.br and

Julio Ferraz de Queiroz

Pesquisador da Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna-SP;
E-mail: julio.queiroz@embrapa.br

Juliana Augusta Gil

Mestranda no Programa Pós Graduação Biologia Animal, UNICAMP, Campinas-SP

Fernanda Smaniotto

Mestranda no Programa Pós Graduação Biologia Animal, UNICAMP, Campinas-SP

Patricia da Silva Dias

Doutoranda no Programa Pós Graduação Biologia Animal, UNICAMP, Campinas-SP

José Henrique Vallim

Analista da Embrapa Meio Ambiente

RESUMO

O uso do óleo de cravo como anestésico no manejo de peixes e do florfenicol no tratamento de bacterioses podem deixar resíduos na água

acarretando prejuízos na saúde dos peixes e no meio ambiente. Biomarcadores hematológicos são alterações nos parâmetros sanguíneos detectadas em organismos expostos a algum agente ou poluente na água. Resíduos do óleo de cravo e do florfenicol na água podem interferir nos biomarcadores hematológicos prejudicando sua interpretação durante o monitoramento da qualidade da água. O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito de concentrações residuais do óleo de cravo e do florfenicol na água na resposta dos biomarcadores hematológicos em tilápias. Foram avaliadas as variáveis sanguíneas em juvenis de tilápias mantidas durante três e sete dias em sistema de aquários com volume útil de 200L sem recirculação de água. Foram utilizados três tratamentos com três repetições, e cada aquário contendo nove tilápias como unidade amostral. O experimento 1 foi composto pelos tratamentos: controle (sem diluente e sem óleo de cravo), óleo de cravo na concentração de 0,5 mg/L com o diluente álcool na concentração de 10µL/L e somente diluente álcool a 10µL/L de água. O experimento 2 foi composto pelos tratamentos: 0,0 (controle); 0,5 mg/L e 5 mg/L de florfenicol. As variáveis sanguíneas coletadas durante os dois experimentos não apresentaram diferença significativa, assim como os parâmetros de monitoramento da água, como pH, oxigênio dissolvido, temperatura, condutividade e amônia total. Concentrações residuais do óleo de cravo e do florfenicol na água não interferem na resposta dos biomarcadores hematológicos em tilápia.

Palavras-chave: *Oreochromis niloticus*, Eugenol, Antibiótico, Poluente, Resíduos.

1 INTRODUÇÃO

A tilapicultura teve início no Brasil na década de 1970. Embora não seja uma espécie nativa, a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), principal espécie produzida no Brasil, foi introduzida em 1971 (SCHULTER, FILHO, 2017). Nativas da África, Israel e Jordânia, as tilápias apresentam fácil reprodução, carne branca de excelente qualidade, ótimo valor de mercado, baixos custos de produção



e se adaptam aos sistemas de cultivo mais extensivos até os mais intensivos, podendo ser cultivadas em águas com salinidades elevadas e temperaturas baixas. (OLIVEIRA *et al.*, 2007). A expansão da aquicultura no Brasil vem apresentando um aumento crescente e significativo, sendo registrado um aumento de 4,7% em 2021 com uma produção acima de 840 mil toneladas (PEIXEBR, 2022). Portanto, é fundamental adotar um manejo produtivo eficiente a partir do desenvolvimento de sistemas e monitoramento ambiental inovador a fim de otimizar o manejo e a gestão ambiental da aquicultura (ISHIKAWA *et al.*, 2020).

O desenvolvimento e validação de metodologias e protocolos de pesquisa para análises da água e qualidade ambiental, especialmente monitoramentos por meio do uso de biomarcadores e bioindicadores, são fundamentais para assegurar a expansão e a consolidação da aquicultura no Brasil (SIDONIO *et al.*, 2012; ISHIKAWA *et al.*, 2020). Os biomarcadores mostram as expressões de alterações na homeostasia animal com resposta biológica, seja em nível bioquímico, molecular e/ou celular, com relação aos efeitos toxicológicos de substâncias químicas, enquanto os bioindicadores são espécies vegetais e animais que expressam os sintomas iniciais de estresse ambiental através do efeito de contaminantes. (ADAMS, 2002; VAN DER OOST; SINGER, VERMEULEN, 2003).

Cabe destacar que as causas do estresse em peixes são praticamente inevitáveis quando se trata do manejo rotineiro da piscicultura e, até mesmo, as variações ambientais e os fatores da natureza, também influem (URBINATI, CARNEIRO, 2004). Algumas estratégias são apontadas com intuito de aliviar os efeitos do estresse em peixes tanto para estimular o sistema imunológico (FUJIMOTO *et al.*, 2005), como a utilização de anestésico em algumas práticas de manejo (INOUE; SANTOS NETO, MORAES, 2004).

Os anestésicos exercem uma função de suma importância na piscicultura, pois diversas substâncias são frequentemente utilizadas para anestésiar os peixes com intuito de aliviar as reações de estresse sofridas em seu manejo. A MS-222 (tricaina metano sulfonato), a quinaldina, a benzocaína e o phenoxyethanol têm sido amplamente utilizados no Brasil, mas alguns efeitos colaterais são observados como perda de muco, irritação nas brânquias e olhos. Dessa forma substâncias naturais como o óleo essencial de cravo (eugenol) é proposto como um anestésico alternativo, por ser um produto natural de custo acessível e sem riscos aparentes de intoxicações (INOUE; SANTOS NETO, MORAES, 2003).

O óleo essencial de cravo é resultado da destilação das folhas e flores (incluindo talos) das árvores de cravo (*Eugenia aromatica*) sendo a substância ativa o eugenol, com concentração que varia de 70% a 90% da composição total do óleo essencial do cravo, considerando um anestésico seguro, de grande eficácia, apresentando ampla margem de segurança para o peixe e ausência de toxicidade para o operador nas doses utilizadas em peixes (ISAACS, 1983).



Ainda em decorrência do estresse, as consequências dos danos causados aos peixes incluem o aumento da susceptibilidade a doenças patogênicas e infecciosas (GIMBO *et al.*, 2008). Sendo então necessário o uso de medicamentos e antibióticos durante a rotina de manejo de uma produção, como por exemplo, o florfenicol.

O florfenicol é considerado um importante antibiótico utilizado na aquicultura e, atualmente, no Brasil, é um dos poucos antibióticos de uso veterinário que se encontra registrado e regulamentado para uso (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2016).

Levando em consideração o uso frequente do óleo de cravo e do florfenicol na aquicultura com probabilidade da permanência de resíduos na água de cultivo, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de concentrações residuais do óleo de cravo e do florfenicol na água nas respostas dos biomarcadores hematológicos em tilápias.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 LOCAL DE REALIZAÇÃO DOS EXPERIMENTOS

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Aquicultura e Ecotoxicologia da Embrapa Meio Ambiente localizado em Jaguariúna – SP, executados concomitantemente, mas independentes e sem nenhuma interferência entre os dois experimentos. Ambos pertencem ao mesmo projeto de pesquisa e foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais CEUA (Embrapa Meio Ambiente) Protocolo nº 007/2019 e Protocolo nº 008/2019.

2.2 EXPERIMENTOS E TRATAMENTOS

Na realização deste estudo utilizaram-se peixes de dois experimentos que foram conduzidos no sistema de 18 aquários com capacidade útil de 200 L, sem recirculação de água (Figura 1). Foram utilizadas nove tilápias por aquário, providos de aeração suplementar por meio de compressor de ar radial. As tilápias foram adquiridas de um produtor cadastrado na CEUA da Embrapa Meio Ambiente. Os dois experimentos foram inteiramente casualizados, com três tratamentos: o controle (sem adição de óleo de cravo e sem adição do diluente - álcool comum) na água, o tratamento acrescido do óleo de cravo na concentração de 0,5mg/L (100 vezes menor do que a concentração utilizada para anestésiar tilápias), com adição do diluente álcool na concentração de 10µL/L e o tratamento acrescido apenas do diluente do óleo, ou seja, de álcool a 10µL/L de água. Já no experimento com florfenicol utilizaram-se as seguintes concentrações para os tratamentos: controle (sem adição do florfenicol) ; 0,5mg de florfenicol/L de água (100 vezes menor que a concentração utilizada no tratamento de bacterioses) e 5mg de florfenicol/L de água (10 vezes menor que a concentração utilizada no tratamento de bacterioses). Foram utilizadas três repetições para cada tratamento, sendo cada aquário contendo nove tilápias uma unidade amostral.



Figura1-Sistema de aquários dos experimentos sem recirculação de água. Foto: Márcia Mayumi Ishikawa



2.3 PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS DA ÁGUA

Durante o período experimental, os parâmetros de qualidade da água foram monitorados no período da manhã. Com o auxílio da sonda multiparâmetro (U-50, Horiba, Minami-ku, Kyoto, Japan), mensurou-se o pH, a temperatura ($^{\circ}\text{C}$), o oxigênio dissolvido (mg L^{-1}) e a condutividade elétrica (μScm^{-1}). A amônia também foi mensurada diariamente com uso do kit Labcon test.

2.4 ANÁLISE HEMATOLÓGICA

Após o período de três e sete dias, três peixes de cada repetição foram utilizados para a realização da biometria e das análises sanguíneas, totalizando 27 peixes. A biometria (peso em g e o comprimento em cm) e a coleta de sangue foram realizadas após a indução anestésica com benzocaína 100 mg L^{-1} (banho de imersão). A coleta de sangue foi realizada por punção caudal com auxílio de seringas contendo EDTA (3%). Por meio dessas amostras determinou-se o hematócrito (Htc%) pelo método do microhematócrito segundo GOLDENFARB; BOWYER, BROSIUS (1971), hemoglobina (Hb; g dL^{-1}) pelo método da cianometahemoglobina (HCN), proteína plasmática total (PPT) com o auxílio de refratômetro, o exame de glicemia foi realizado com o auxílio de um glicosímetro. O número total de eritrócitos foi determinado pelo método do hemocítmetro, em câmara de Neubauer. Após esses procedimentos, os peixes foram eutanasiados por aprofundamento anestésico com benzocaína a 100 mg L^{-1} .

Durante os experimentos foram avaliadas a ocorrência de mortalidade e dos sintomas clínicos como lesões, hemorragias ou alterações de comportamento.



3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os parâmetros mensurados no monitoramento de qualidade da água do experimento 1 são apresentados na Tabela 1.

Durante os sete dias de experimento não houve diferenças significativas ($p>0,05$) para os parâmetros físico-químicos mensurados. Apesar de não ter apresentado diferenças significativas é possível observar que a amônia total do grupo controle em três dias (Tabela 1) manteve valores médios de 1,74 ppm, mas com desvio padrão alto. Isso ocorreu pelo fato de que o sistema não possui recirculação de água, o que favoreceu o aumento da sua concentração. A temperatura ficou em torno de 25,7°C.

Tabela 1. Parâmetros Físico-Químicos de qualidade da água de tilápias em ambiente controlado com concentração subletal de óleo de cravo.

Parâmetros Físico-Químicos aos 3 dias					
Tratamentos	Temp. (°C)	pH	OD (mg L ⁻¹)	Cond. (µScm ⁻¹)	Amônia (ppm)
Controle	25,73± 0,47 ^a	6,88± 0,27 ^a	6,39± 0,70 ^a	0,08± 0,0 ^a	1,74± 1,16 ^a
Álcool	25,85± 0,65 ^a	6,88± 0,25 ^a	5,76± 0,38 ^a	0,08± 0,0 ^a	1,55± 0,88 ^a
Óleo de Cravo + Álcool	25,79± 0,75 ^a	6,90± 0,21 ^a	6,37± 1,23 ^a	0,08± 0,0 ^a	1,34± 0,59 ^a
Parâmetros Físico-Químicos aos 7 dias					
Controle	25,76± 0,46 ^a	6,60± 0,13 ^a	5,95± 0,76 ^a	0,09± 0,01 ^a	2,09± 0,34 ^a
Álcool	25,71± 0,50 ^a	6,68± 0,14 ^a	5,41± 0,51 ^a	0,09± 0,01 ^a	1,90± 0,33 ^a
Óleo de Cravo + Álcool	25,70± 0,44 ^a	6,66± 0,15 ^a	5,51± 0,23 ^a	0,09± 0,01 ^a	1,76± 0,37 ^a

Temp. = Temperatura; OD = Oxigênio Dissolvido; Cond. = Condutividade
Médias seguidas de letras distintas na mesma coluna diferem pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

Os parâmetros mensurados no monitoramento de qualidade da água do experimento 2 são apresentados na Tabela 2. Durante os sete dias de experimento do experimento 2 não houve diferenças significativas ($p>0,05$) nos parâmetros físico-químicos mensurados.

Não foram observados sinais clínicos e nem mortalidade de peixes durante os experimentos, reforçando que as concentrações residuais do óleo de cravo e do florfenicol não causaram prejuízos à saúde das tilápias.



Tabela 2. Parâmetros Físico-Químicos de qualidade da água de tilápias em ambiente controlado com concentração subletal de florfenicol.

Parâmetros Físico-Químicos aos 3 dias					
Concentração (mg L ⁻¹)	Temp. (°C)	pH	OD (mg L ⁻¹)	Cond. (µScm ⁻¹)	Amônia (ppm)
Controle	25,98± 0,44 ^a	6,87± 0,28 ^a	6,20± 0,89 ^a	0,09± 0,01 ^a	1,61± 0,89 ^a
0.5	26,07± 0,48 ^a	6,98± 0,15 ^a	5,86± 0,51 ^a	0,08± 0,0 ^a	1,44± 0,46 ^a
5	26,10± 0,56 ^a	6,97± 0,17 ^a	5,86± 0,50 ^a	0,08± 0,0 ^a	1,39± 0,89 ^a
Parâmetros Físico-Químicos aos 7 dias					
Controle	26,36± 0,58 ^a	6,67± 0,09 ^a	6,27± 0,75 ^a	0,09± 0,01 ^a	1,50± 0,25 ^a
0.5	26,57± 0,75 ^a	6,73± 0,21 ^a	6,22± 0,77 ^a	0,09± 0,01 ^a	1,72± 0,26 ^a
5	26,61± 0,75 ^a	6,71± 0,17 ^a	5,60± 0,28 ^a	0,09± 0,01 ^a	1,72± 0,36 ^a

Temp. = Temperatura; OD = Oxigênio Dissolvido; Cond. = Condutividade
Médias seguidas de letras distintas na mesma coluna diferem pelo teste de Tukey (P < 0,05).

As médias dos pesos (g), dos comprimentos (cm) dos peixes e seus respectivos coeficientes de variação do experimento 1 estão apresentados na Tabela 3. Os parâmetros observados apresentaram diferenças dentro do esperado para garantir a homogeneidade dos tratamentos.

Tabela 3. Parâmetros biométricos de tilápias em ambiente controlado com concentração subletal de óleo de cravo.

Parâmetros Biométricos aos 3 dias						
Tratamentos	Peso (g)	CV (%)	C. Padrão (cm)	CV (%)	C. Total (cm)	CV (%)
Controle	52,19±8,85	16,97	11,96±0,83	6,95	14,50±0,90	9,37
Álcool	47,17±10,72	22,72	11,51±1,21	10,55	14,08±1,32	6,18
Óleo de cravo + Álcool	48,95±12,77	26,09	11,79±0,76	6,41	14,56±1,03	7,09
Parâmetros Biométricos aos 7 dias						
Controle	56,66±11,35	20,03	12,18±0,76	6,47	14,86±0,95	6,41
Álcool	52,51±9,03	17,20	11,74±0,76	6,44	14,47±0,98	6,76
Óleo de cravo + Álcool	53,27±9,17	17,22	11,90±0,77	6,22	14,69±0,93	6,35

C. padrão = Comprimento padrão; C. total = Comprimento total; CV = Coeficiente de variação

As médias dos pesos (g), dos comprimentos (cm) dos peixes e dos seus respectivos coeficientes de variação do experimento 2 estão apresentados na Tabela 4. Embora o coeficiente de variação tenha sido maior em alguns tratamentos, as médias foram mantidas dentro do esperado para garantir a homogeneidade dos tratamentos.



Tabela 4. Parâmetros biométricos de tilápias em ambiente controlado com concentração subletal de florfenicol.

Parâmetros Biométricos aos 3 dias						
Concentração (mg L ⁻¹)	Peso (g)	CV (%)	C. Padrão (cm)	CV (%)	C. Total (cm)	CV (%)
Controle	74,81±13,02	17,41	13,42±0,62	4,59	16,40±0,80	4,89
0.5	61,54±30,11	48,94	13,18±1,08	8,19	16,31±1,44	8,81
5	70,82±13,38	18,89	13,09±1,06	8,13	16,02±1,02	6,36
Parâmetros Biométricos aos 7 dias						
Controle	74,64±7,66	10,27	13,53±1,07	7,90	16,62±1,12	6,76
0.5	74,80±13,02	18,75	13,31±1,23	9,20	16,39±1,32	8,07
5	73,22±15,92	21,75	13,19±0,78	5,92	16,24±0,93	5,72

C. padrão = Comprimento padrão; C. total = Comprimento total; CV = Coeficiente de variação

Os valores sanguíneos de hematócrito, proteína plasmática total, hemoglobina, eritrócitos e glicemia não apresentaram diferenças significativas ($p>0,05$) em resposta aos tratamentos utilizados (Tabela 5 e 6). Estes dados reforçam que as concentrações residuais do óleo de cravo e do florfenicol não causaram prejuízos à saúde das tilápias.

Tabela 5. Variáveis sanguíneas de tilápias em ambiente controlado com concentração subletal de óleo de cravo.

Variáveis Sanguíneas aos 3 dias					
Tratamentos	Htc (%)	PPT (g L ⁻¹)	Hb (g dL)	Erit. (x10 ⁶ L)	Glicemia(mg dL)
Controle	33,61± 2,92 ^a	4,17± 0,35 ^a	10,58± 1,14 ^a	1,64± 0,57 ^a	46,56± 9,37 ^a
Álcool	31,44± 4,19 ^a	4,0± 0,5 ^a	10,90± 2,18 ^a	2,08± 0,62 ^a	46,11± 10,87 ^a
Óleo de Cravo + Álcool	32,61± 4,08 ^a	3,79± 0,67 ^a	10,87± 0,88 ^a	1,57± 0,58 ^a	41,67± 8,51 ^a
Variáveis Sanguíneas aos 7 dias					
Controle	28,22± 3,23 ^a	4,02± 0,34 ^a	12,34± 2,18 ^a	1,94± 0,62 ^a	43,11± 8,37 ^a
Álcool	27,44± 4,59 ^a	4,19± 0,25 ^a	11,57± 1,68 ^a	1,66± 0,36 ^a	54,33± 14,76 ^a
Óleo de Cravo + Álcool	28,0± 4,12 ^a	4,30± 0,66 ^a	12,96± 1,60 ^a	1,84± 0,26 ^a	42,78± 8,77 ^a

Htc = Hematócrito; PPT = Proteína Plasmática Total; Hb = Hemoglobina; Erit. = Eritrócitos
Médias seguidas de letras distintas na mesma coluna diferem pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

Tabela 6. Variáveis sanguíneas de tilápias em ambiente controlado com concentração subletal de florfenicol.

Variáveis Sanguíneas aos 3 dias					
Concentração (mg L ⁻¹)	Htc (%)	PPT (g L ⁻¹)	Hb (g dL)	Erit. (x10 ⁶ L)	Glicemia(mg dL)
Controle	31,5± 4,45 ^a	4,22± 0,44 ^a	9,92± 1,08 ^a	1,87± 0,49 ^a	44,33± 5,94 ^a
0.5	34,67± 8,67 ^a	4,33± 0,71 ^a	10,85± 1,13 ^a	1,85± 0,50 ^a	45,11± 5,46 ^a
5	35,22± 4,77 ^a	4,11± 0,33 ^a	11,25± 0,71 ^a	1,72± 0,35 ^a	43,11± 11,15 ^a



Variáveis Sanguíneas aos 7 dias					
Controle	29,89± 3,26 ^a	4,33± 0,71 ^a	10,01± 0,62 ^a	2,02± 0,24 ^a	45,89± 9,17 ^a
0.5	31,11± 2,32 ^a	4,22± 0,44 ^a	10,50± 1,59 ^a	2,01± 0,30 ^a	43,0± 8,79 ^a
5	30,33± 1,94 ^a	4,11± 0,60 ^a	10,59± 2,25 ^a	2,08± 1,05 ^a	40,78± 5,17 ^a

Médias seguidas de letras distintas na mesma coluna diferem pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

De acordo com McDONALD; MILLIGAN (1997), o estresse provoca a hemoconcentração em muitos peixes teleósteos, alterando os valores do hematócrito e outros parâmetros hematológicos. Já, PETERSON (1990) esclarece que o aumento do hematócrito é observado como resultado do inchaço do eritrócito, diminuição do volume plasmático, aumento do número de células vermelhas ou a combinação destes fatores. Em relação aos peixes submetidos a concentrações subletais de óleo de cravo, não houve diferença significativa, corroborando os resultados de WAGNER; SINGER, McKINLEY (2003), que não verificaram alterações nos níveis de hematócrito de peixes anestesiados com óleo de cravo. Neste trabalho observou-se que não houve alterações significativas na glicemia nos dois experimentos, reforçando a ausência de estresse nos peixes.

Com o uso crescente do óleo de cravo no manejo de peixes, diversos estudos foram realizados para testar o seu potencial como anestésico. Apesar desses estudos apresentarem dados para a indução anestésica, é possível utilizar os resultados para comparação e confirmação de que em concentrações residuais a substância não possui potencial para alteração nos parâmetros hematológicos em tilápias, permitindo o uso destes biomarcadores no monitoramento de outros agentes ou poluentes sem a interferência deste resíduo do óleo de cravo.

Segundo SIMÕES *et al.* (2012), a concentração de 250 mg L⁻¹ de óleo de cravo foi selecionada como a mais adequada para atingir a parada total dos movimentos operculares dos organismos teste, apresentando diferenças significativas nos valores de hematócrito e hemoglobina. Já, no presente trabalho as concentrações testadas foram 2.500 vezes menores, evidenciando que em concentrações residuais, a resposta hematológica foi diferente das obtidas com as concentrações anestésicas, favorecendo a interpretação dos resultados dos biomarcadores hematológicos durante o monitoramento da qualidade da água.

O uso do antibiótico florfenicol tem sido estudado para avaliar seu potencial no tratamento de bacterioses em peixes (CARRASCHI *et al.*, 2011; GAIKOWSKI *et al.*, 2013; OLIVEIRA *et al.*, 2018). O uso frequente em doses terapêuticas desse antibiótico favorece a ocorrência de concentrações residuais na água sendo importante o monitoramento para garantir a qualidade da água. Neste trabalho observou-se que essas concentrações residuais não causam alterações nos parâmetros hematológicos em tilápias, permitindo o uso destes biomarcadores no monitoramento de outros agentes ou poluentes sem a interferência do resíduo de florfenicol. Para a padronização dos biomarcadores em peixes no



monitoramento de qualidade da água é importante a avaliação dos demais biomarcadores como por exemplo, os bioquímicos, enzimáticos e patológicos (ISHIKAWA *et al.*, 2020).

4 CONCLUSÃO

As concentrações residuais de óleo de cravo e do florfenicol na água não interferem na resposta dos biomarcadores hematológicos em tilápia.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq pela bolsa PIBIC concedida e ao Projeto BRS Aqua .



REFERÊNCIAS

- ADAMS, M. Biological indicators of aquatic ecosystem stress. American Fisheries Society, EUA. 2002, p. 656.
- CARRASCHI, S. P.et al. Eficácia do florfenicol e da oxitetraciclina no controle de *Aeromonas hydrophila* em pacu (*Piaractus mesopotamicus*). Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, v. 63, n. 3, p. 579-583, 2011.
- FUJIMOTO, R. Y.et al. Efeito da suplementação alimentar com cromo trivalente em pacu, *Piaractus mesopotamicus* (Holmeberg, 1887) mantido em diferentes densidades de estocagem. Parâmetros Fisiológicos. Boletim Instituto da Pesca, v. 31, n. 2, p. 155-162, 2005.
- GAIKOWSKI, M. P.et al. Safety of florfenicol administered in feed to tilapia (*Oreochromis sp.*). Toxicologic Pathology, v. 41, p. 639-652, 2013.
- GIMBO, R. Y.et al. Diferentes concentrações de benzocaína na indução anestésica do lambari-doraboamarelo (*Astyanax altiparanae*). Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal, v. 9, n. 2, p. 350- 357, 2008.
- GOLDENFARB, P. B.; BOWYER, F. P.; BROSIIOUS, E. Reproducibility in the hematology laboratory: the microhematocrit determination. American Journal of Clinical Pathology, v. 56, p. 35-39, 1971.
- INOUE, L. A. K. A.; SANTOS NETO, C. dos; MORAES, G. Clove oil anaesthetic for juveniles of matrinxã *Brycon cephalus* (Gunther, 1869). Ciência Rural, v. 33, n. 5, p. 943-947, 2003.
- INOUE, L. A. K.; SANTOS NETO, C. dos; MORAES, G. Standardization of 2-phenoxyethanol as anesthetic for juvenile brycon cephalus (Gunther, 1869): the use in field procedures. Ciência Rural, v. 4, n. 2, p. 563- 565, 2004.
- ISAACS, G. Permanent local anaesthesia and anhidrosis after clove oil spillage. Lancet, v. 321, p. 882, 1983
- ISHIKAWA, M. M.; QUEIROZ, J. F. de; NASCIMENTO, J. L. do; PÁDUA, S. B. de; MARTINS, M. L. Uso de biomarcadores em peixe e boas práticas de manejo sanitário para a piscicultura. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2020. 28 p. (Embrapa Meio Ambiente. Documentos, 126).
- Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Sobre produtos veterinários, dez. 2016. Disponível em: <<https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-pecuarios/produtos-veterinarios/sobre-produtos-veterinarios>>. Acesso em: 24 jul. 2020.
- McDONALD, G.; MILLIGAN, L. Ionic, osmotic and acid-base regulation in stress. In: IWANA, G. W.et al. (Ed.). Fish stress and health in aquaculture. Cambridge: University Press, 1997. p. 119-144.
- OLIVEIRA, E. G. de et al. Produção de tilápia: mercado, espécie, biologia e recria. Teresina: Embrapa Meio-Norte, 2007. 12 p. (Embrapa Meio-Norte. Circular Técnica, 45).
- OLIVEIRA, T. F.et al. Recurrent *Streptococcus agalactiae* infection in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) treated with florfenicol. Aquaculture, v. 493, p. 51-60, 2018.



PEIXE BR 2022. Anuário peixe BR da piscicultura. Disponível em: <<https://www.peixebr.com.br/anuario2022/>>. Acesso em: 14 dez. 2023.

PETERSON, M. S. Hypoxia-induced physiological changes in two mangrove swamp fishes: sheepshead minnow, *Cyprinodon variegatus* lacepede and sailfin molly, *Poecilia latipinna* (Lesueur). *Comparative Biochemmstry and Physiology. Part A*, v. 97, p. 17-21, 1990.

SCHULTER, E. P.; VIEIRA FILHO, J. E. R. Evolução da piscicultura no Brasil: diagnóstico e desenvolvimento da cadeia produtiva de tilápia. Rio de Janeiro: *Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada*, 2017. p. 13-14.

SIDONIO, L. et al. Panoramada aquicultura no Brasil: desafios e oportunidades. *Agroindústria BNDES Setorial*, v. 35, p. 421-463, 2012.

SIMÕES, L. N. et al. The use of clove oil as an anesthetic for advanced juvenile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Acta Scientiarum. Animal Sciences*, v. 34, n. 2, p.175-181, 2012.

URBINATI, E. C.; CARNEIRO, P. C. F. Práticas de manejo e estresse dos peixes em piscicultura Intensiva. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/286776959_Praticas_de_manejo_e_estresse_dos_peixes_em_piscicultura>. Acesso em: 25 jul. 2020.

VAN DER OOST, R.; BEYER, J.; VERMEULEN, N. P. E. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, v. 13, p. 57-149, 2003.

WAGNER, G. N.; SINGER, T. D.; MCKINLEY, R. S. The ability of clove oil and MS-222 to minimize handling stress in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum). *Aquaculture Research*, v. 34, p. 1139-1146, 2003.