

## **Efeito das concentrações residuais do óleo de cravo e do Florfenicol nos biomarcadores enzimáticos em Tilápias**

### **Effect of residual concentrations of clove oil and Florfenicol on enzyme biomarkers in Tilapia**

DOI:10.34117/bjdv8n10-138

Recebimento dos originais: 12/09/2022

Aceitação para publicação: 10/10/2022

#### **Júlia Lourenço do Nascimento**

Graduanda em Processos Químicos

Instituição: Faculdade de Tecnologia de Campinas (FATEC)

Endereço: Av. Cônego Antonio Roccatto, S/N, Km 3,5, Jardim Santa Mônica,  
Campinas - SP

E-mail: nascimento.julia99@gmail.com

#### **Giovanni Henrique ferri**

Doutorando no Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal pela Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP)

Instituição: Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP)

Endereço: Cidade Universitária Zeferino Vaz, Barão Geraldo, CEP: 13083-970,  
Campinas - SP

E-mail: giovannihf@hotmail.com

#### **Fernanda Smaniotto**

Mestranda no Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal pela Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP)

Instituição: Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP)

Endereço: Cidade Universitária Zeferino Vaz, Barão Geraldo, CEP: 13083-970,  
Campinas - SP

E-mail: fer\_smtto@hotmail.com

#### **José Henrique Vallim**

Doutorado em Biologia Funcional e Molecular na Área de Bioquímica

Instituição: Embrapa Meio Ambiente

Endereço: Rodovia SP 340, Jaguariúna - SP, CEP: 13918-110

E-mail: jose.vallim@embrapa.br

#### **Julio Ferraz de Queiroz**

Pós-doutorado em Qualidade de Água e Solos para Aquicultura

Instituição: Embrapa Meio Ambiente

Endereço: Rodovia SP 340, Jaguariúna - SP, CEP: 13918-110

E-mail: julio.queiroz@embrapa.br

**Márcia Mayumi Ishikawa**

Doutorado em Parasitologia Veterinária

Instituição: Embrapa Meio Ambiente

Endereço: Rodovia SP 340, Jaguariúna - SP, CEP: 13918-110

E-mail: marcia.ishikawa@embrapa.br

**RESUMO**

O uso do óleo de cravo como anestésico no manejo de peixes e do florfenicol no tratamento de infecções podem deixar resíduos na água, acarretando prejuízos na saúde dos peixes e no meio ambiente. Biomarcadores enzimáticos são alterações nas enzimas detectadas em organismos expostos a substâncias tóxicas na água. A presença de resíduos do óleo de cravo e do florfenicol na água pode interferir nos biomarcadores enzimáticos, prejudicando sua interpretação durante 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 enzimáticos em tilápias do Nilo. Foram utilizados dois tratamentos com três repetições, considerando cada aquário contendo nove tilápias como unidade amostral. O experimento 1 foi composto pelos tratamentos: óleo de cravo na concentração de 0,5 mg/L com o diluente etanol 96°GL; o segundo tratamento foi acrescido apenas do diluente do óleo, ou seja, etanol a 10µL/L de água e o grupo controle (sem adição de óleo de cravo e sem adição do diluente - etanol) na água. O experimento 2 foi composto pelos tratamentos: 0,0 (grupo controle); 0,5 mg/L e 5 mg/L de florfenicol. Os parâmetros enzimáticos avaliados durante os dois experimentos não apresentaram diferença significativa, indicando que as concentrações residuais de óleo de cravo e do florfenicol avaliados neste estudo não interferem na resposta dos biomarcadores enzimáticos em tilápias.

**Palavras-chave:** Tilápia do Nilo, eugenol, qualidade da água, resíduos.

**ABSTRACT**

The use of clove oil as an anesthetic in the management of fish and florfenicol in the treatment of infections can leave residues in the water causing damage to fish health and to the environment. Enzymatic biomarkers are changes in enzymes detected in organisms exposed to toxic substances in water. The presence of residues of clove oil and florfenicol in water may interfere with enzymatic biomarkers impairing their interpretation during monitoring of water quality. The aim of this study was to evaluate the effect of residual concentrations of clove oil and florfenicol in water on the response of enzymatic biomarkers in Nile tilapia. Two treatments with three replications were used, considering each aquarium containing nine tilapias as a sampling unit. Experiment 1 was composed of the following treatments: clove oil at a concentration of 0.5 mg/L with the ethanol diluent 96°GL; the second treatment was added only to the oil thinner, i.e., ethanol at 10µL/L of water; and the control group (without adding clove oil and without adding the diluent - ethanol) to the water. Experiment 2 consisted of the treatments: 0.0 (control group); 0.5 mg/L; and 5 mg/L florfenicol. The enzymatic parameters evaluated during the two experiments showed no significant difference, indicating that the residual concentrations of clove oil and florfenicol evaluated in this study do not interfere in the response of enzymatic biomarkers in tilapia.

**Keywords:** Tilápia do Nilo, eugenol, water quality, residues.

## 1 INTRODUÇÃO

Atualmente a aquicultura é considerada como um dos sistemas de produção com maior taxa de crescimento no mundo, apresentando grande potencial de expansão devido à busca dos consumidores por alimentos mais saudáveis (SEBRAE, 2015). De acordo com a Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (FAO), a aquicultura cresceu a uma taxa média anual de 5,3% nos últimos 10 anos (FAO, 2020). No ano de 2016, a produção mundial de pescado aproximou-se de 170,9 milhões de toneladas, sendo que o Brasil ocupou o 13º lugar no ranking (FAO, 2018).

Dentre as diversas espécies de peixes existentes, a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) é o peixe mais produzido no Brasil, sendo introduzida pelo Departamento Nacional de Obras Contra as Secas (DNOCS) em 1971 (SCHULTER, VIEIRA FILHO, 2017). Nativas da África, as tilápias apresentam fácil reprodução, carne branca de boa qualidade, alto teor de proteínas, ótimo valor de mercado, baixos custos de produção, adaptando-se desde os sistemas de cultivo extensivos até os intensivos e podendo ser cultivadas em águas com salinidades elevadas e temperaturas baixas (OLIVEIRA *et al.*, 2007).

Para suprir a grande demanda decorrente da produção de peixes, é comum a utilização do cultivo intensivo na piscicultura, no entanto, nesse tipo de cultivo é comum a exposição dos peixes a diversos agentes estressores como o manejo do transporte e do confinamento rotineiro da piscicultura, além da influência das variações ambientais e dos fatores da natureza (URBINATI; CARNEIRO, 2004). Segundo Fujimoto *et al.* (2005) e Inoue, Santos Neto e Moraes (2004), existem estratégias com objetivo de aliviar os efeitos do estresse em peixes, tanto pela estimulação do sistema imunológico, como pela utilização de anestésico em algumas práticas de manejo.

Os anestésicos são produtos que exercem uma função importante na piscicultura, podendo facilitar o manejo e, possivelmente, reduzir o estresse em peixes (SMALL, 2004). No Brasil, diversos anestésicos são amplamente utilizados para prevenir o estresse dos peixes durante o manuseio, dentre eles temos a quinaldina, o fenoxietanol e a benzocaína. No entanto, estudos relatam a ocorrência de efeitos colaterais como irritações no corpo e brânquia, danos na córnea e riscos gerais de intoxicação na presença desses compostos. Sendo assim, o óleo essencial de cravo, um composto natural, vem sendo muito utilizado como uma alternativa aos anestésicos sintéticos, uma vez que é economicamente viável, apresentando um baixo custo (WALSH; PEASE, 2002), uma boa margem de segurança para os peixes (PARK *et al.*, 2008) e não é tóxico para seres

humanos (KEENE *et al.*, 1998; CHO; HEATH, 2001). O óleo essencial de cravo tem como principal componente o eugenol, com concentração que varia de 70% a 90% da composição total do óleo essencial do cravo (ISAACS, 1983). Ele pode ser obtido através da destilação do extrato de folhas, caules e raízes de vegetais das espécies *Eugenia caryophyllata* e *Eugenia aromática* (BOYER *et al.*, 2009; CUNHA; ROSA, 2006).

Ainda em decorrência do estresse, cabe destacar que é notável a consequência dos danos causados aos peixes, como por exemplo, o surgimento de infecções e o aumento da susceptibilidade a doenças patogênicas (GIMBO *et al.*, 2008). Dessa forma, o uso de medicamentos e antibióticos como o florfenicol é necessário durante a rotina de manejo de uma produção. O florfenicol é um antibiótico veterinário muito utilizado na aquicultura, especificamente no tratamento de infecções em peixes devido ao seu amplo espectro de ação, que atua contra bactérias Gram-positivas e negativas (CARRASCHI *et al.*, 2011) e, atualmente, é um dos poucos antibióticos de uso veterinário que se encontra registrado e regulamentado para uso (BRASIL, 2016).

Diante desse cenário, o estudo, desenvolvimento e validação de metodologias e protocolos de pesquisa para análises da água e qualidade ambiental, visando o monitoramento por meio do uso de biomarcadores e bioindicadores, é de grande importância para assegurar a expansão da aquicultura no Brasil (SIDONIO *et al.*, 2012). Os biomarcadores podem ser definidos como uma alteração numa resposta biológica que reflete os efeitos tóxicos de substâncias químicas ou agentes poluentes dispersos no ambiente (GÓMEZ-OLIVÁN *et al.*, 2014), enquanto os bioindicadores são espécies vegetais e animais que expressam os sintomas iniciais de estresse ambiental através do efeito de contaminantes (ADAMS, 2002; OOST; BEYER; VERMEULEN, 2003).

Levando em consideração o uso frequente do óleo de cravo e do florfenicol na aquicultura com possibilidade 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 enzimáticos em tilápias.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 LOCAL DE REALIZAÇÃO DOS EXPERIMENTOS “IN VIVO” E DAS ANÁLISES ENZIMÁTICAS

Os experimentos “in vivo” foram conduzidos no Laboratório de Ecossistemas Aquáticos (LEA) entre os meses de outubro e novembro de 2019, executados concomitante, porém de forma independente. As análises enzimáticas foram realizadas

no Laboratório de Ecotoxicologia e Biossegurança (LEB). Os dois experimentos 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. Foram utilizadas nove tilápias por aquário, providos de aeração suplementar por meio de compressor de ar radial. As tilápias foram adquiridas de um produtor da região. Ambos os experimentos foram inteiramente casualizados, com dois tratamentos, sendo o primeiro 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 etanol 96°GL na concentração de 10µL/L; o segundo tratamento foi acrescido apenas do diluente do óleo, ou seja, etanol a 10µL/L de água e o grupo controle (sem adição de óleo de cravo e sem adição do diluente - etanol) na água. Já no experimento com florfenicol, utilizaram-se as seguintes concentrações para os tratamentos: controle; 0,5mg/L (100 vezes menor que a concentração utilizada no tratamento de bacterioses) e 5mg/L (10 vezes menor que a concentração utilizada no tratamento de bacterioses). Foram utilizadas três repetições para cada tratamento, considerando cada aquário contendo nove tilápias como unidade amostral.

## 2.3 PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS DA ÁGUA

Durante o período experimental, os parâmetros de qualidade da água foram monitorados sempre pela manhã. Com o auxílio da sonda multiparâmetro (U-50, Horiba, Minami-ku, Kyoto, Japan), mensuraram-se o pH, a temperatura (°C), o oxigênio dissolvido (mg.L<sup>-1</sup>) e a condutividade elétrica (µScm<sup>-1</sup>). A amônia também foi mensurada diariamente com uso do kit Labcon Teste Amônia Tóxica (água doce).

## 2.4 PARÂMETROS BIOMÉTRICOS E ANÁLISE ENZIMÁTICA

Após o período de três e sete dias, três peixes de cada repetição foram utilizados para a realização da biometria e coleta de fígado, totalizando 27 peixes. A biometria (peso em g) foi realizada após a indução anestésica com benzocaína 100 mg L<sup>-1</sup> (banho de imersão). O fígado foi coletado após eutanásia dos peixes e foram mantidos a -80°C até

posterior determinação da proteína total no Laboratório de Ecotoxicologia e Biossegurança (LEB). Para quantificação da proteína total as amostras individuais de fígado congeladas foram pesadas e homogeneizadas com o homogeneizador de tecidos ultraturax (T10 Basic, IKA<sup>®</sup>) em tampão fosfato 0,1 M a pH 6,8. Após esse processo, o homogeneizado foi centrifugado a 12.000 rpm, por 20 minutos a 4°C e o sobrenadante foi utilizado como fonte de enzima. Dessa fonte de enzima foi retirada uma alíquota de cada amostra para então obter a determinação da proteína hepática total de acordo com o método de Bradford (1976), utilizando albumina de soro bovino (BSA) como padrão. As amostras foram lidas a 595 nm em leitor de microplacas. Para determinação da lipoperoxidação, utilizou-se a metodologia FOX proposta por Jiang, Woollard e Wolff (1991). Para realizar o ensaio FOX, primeiramente foi necessário preparar uma mistura reativa com reagentes, como o sulfato ferroso 0,011 g, xileno de laranja 0,0081 g, ácido sulfúrico 0,15 ml e BHT 0,098 g em metanol 90%. Após esse procedimento, as amostras de tecido foram desproteinizadas com TCA 10% e, em seguida, centrifugadas a 3.000 rpm, por 10 minutos a 25°C, para então separar o sobrenadante de cada amostra. Os níveis de peroxidação foram detectados pelo espectrofotômetro a 560 nm e apresentados como nmol.g tecido<sup>-1</sup>.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

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

De acordo com os dados apresentados na Tabela 1, nota-se que durante os sete dias de experimento não houve diferenças significativas ( $p > 0,05$ ) para os parâmetros físico-químicos mensurados. Observa-se, no entanto, que dentre os parâmetros avaliados, a amônia com o tratamento óleo de cravo apresentou os menores valores aos 3 e 7 dias. O grupo controle apresentou os maiores valores de amônia em ambas as datas. Destaca-se que a amônia total do grupo controle aos três dias teve média de 1,74 ppm, com alto desvio padrão. Isso ocorreu em decorrência do sistema não possuir recirculação de água. O sistema de recirculação de água é muito utilizado na piscicultura em criações de organismos aquáticos com objetivo de recolher a água do sistema, tratá-la e devolvê-la sem nenhum resíduo aos organismos. Dessa forma, o fato de o sistema não possuir recirculação pode desencadear dificuldades em se manter a qualidade da água uma vez que, as chances de ter a permanência de resíduos do peixe na água são grandes, neste caso um dos parâmetros fortemente afetado é a amônia total. Com isso é possível afirmar que

mesmo não apresentando diferenças significativas ( $p>0,05$ ) para o grupo controle, a falta de recirculação de água pode ter contribuído diretamente para o aumento da sua concentração. Para os demais parâmetros como pH, oxigênio dissolvido, temperatura e condutividade elétrica, o esperado era não ter diferenças significativas, pois foi utilizada uma concentração residual, dessa forma esses parâmetros mantiveram-se dentro do esperado apresentando homogeneidade entre eles.

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 <sup>-1</sup> )	Cond. (µScm <sup>-1</sup> )	Amônia (ppm)
Controle	25.73± 0.47 <sup>a</sup>	6.88± 0.27 <sup>a</sup>	6.39± 0.70 <sup>a</sup>	0.08± 0.0 <sup>a</sup>	1.74± 1.16 <sup>a</sup>
Álcool	25.85± 0.65 <sup>a</sup>	6.88± 0.25 <sup>a</sup>	5.76± 0.38 <sup>a</sup>	0.08± 0.0 <sup>a</sup>	1.55± 0.88 <sup>a</sup>
Óleo de cravo + Álcool	25.79± 0.75 <sup>a</sup>	6.90± 0.21 <sup>a</sup>	6.37± 1.23 <sup>a</sup>	0.08± 0.0 <sup>a</sup>	1.34± 0.59 <sup>a</sup>
Parâmetros Físico-Químicos aos 7 dias					
Controle	25.76± 0.46 <sup>a</sup>	6.60± 0.13 <sup>a</sup>	5.95± 0.76 <sup>a</sup>	0.09± 0.01 <sup>a</sup>	2.09± 0.34 <sup>a</sup>
Álcool	25.71± 0.50 <sup>a</sup>	6.68± 0.14 <sup>a</sup>	5.41± 0.51 <sup>a</sup>	0.09± 0.01 <sup>a</sup>	1.90± 0.33 <sup>a</sup>
Óleo de cravo + Álcool	25.70± 0.44 <sup>a</sup>	6.66± 0.15 <sup>a</sup>	5.51± 0.23 <sup>a</sup>	0.09± 0.01 <sup>a</sup>	1.76± 0.37 <sup>a</sup>

Temp = Temperatura; OD = Oxigênio Dissolvido; Cond = Condutividade elétrica  
Médias seguidas de letras distintas a 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 não houve diferenças significativas ( $p>0,05$ ) nos parâmetros físico-químicos mensurados.

Tabela 2. Parâmetros físico-químicos da qualidade da água de tilápias em ambiente controlado com concentração subletal de Florfenicol.

Parâmetros Físico-Químicos aos 3 dias					
Concentração (mg L <sup>-1</sup> )	Temp. (°C)	pH	OD (mg L <sup>-1</sup> )	Cond. (µScm <sup>-1</sup> )	Amônia (ppm)
0.0	25.98± 0.44 <sup>a</sup>	6.87± 0.28 <sup>a</sup>	6.20± 0.89 <sup>a</sup>	0.09± 0.01 <sup>a</sup>	1.61± 0.89 <sup>a</sup>
0.5	26.07± 0.48 <sup>a</sup>	6.98± 0.15 <sup>a</sup>	5.86± 0.51 <sup>a</sup>	0.08± 0.0 <sup>a</sup>	1.44± 0.46 <sup>a</sup>
5	26.10± 0.56 <sup>a</sup>	6.97± 0.17 <sup>a</sup>	5.86± 0.50 <sup>a</sup>	0.08± 0.0 <sup>a</sup>	1.39± 0.89 <sup>a</sup>
Parâmetros Físico-Químicos aos 7 dias					
0.0	26.36± 0.58 <sup>a</sup>	6.67± 0.09 <sup>a</sup>	6.27± 0.75 <sup>a</sup>	0.09± 0.01 <sup>a</sup>	1.50± 0.25 <sup>a</sup>
0.5	26.57± 0.75 <sup>a</sup>	6.73± 0.21 <sup>a</sup>	6.22± 0.77 <sup>a</sup>	0.09± 0.01 <sup>a</sup>	1.72± 0.26 <sup>a</sup>
5	26.61± 0.75 <sup>a</sup>	6.71± 0.17 <sup>a</sup>	5.60± 0.28 <sup>a</sup>	0.09± 0.01 <sup>a</sup>	1.72± 0.36 <sup>a</sup>

Temp. = Temperatura; OD = Oxigênio Dissolvido; Cond. = Condutividade elétrica  
Médias seguidas de letras distintas a 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, garantindo a homogeneidade dos tratamentos.

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

<b>Parâmetros Biométricos aos 3 dias</b>						
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
<b>Parâmetros Biométricos aos 7 dias</b>						
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

As médias dos pesos (g), dos comprimentos (cm) dos peixes e 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, garantindo a homogeneidade dos tratamentos.

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

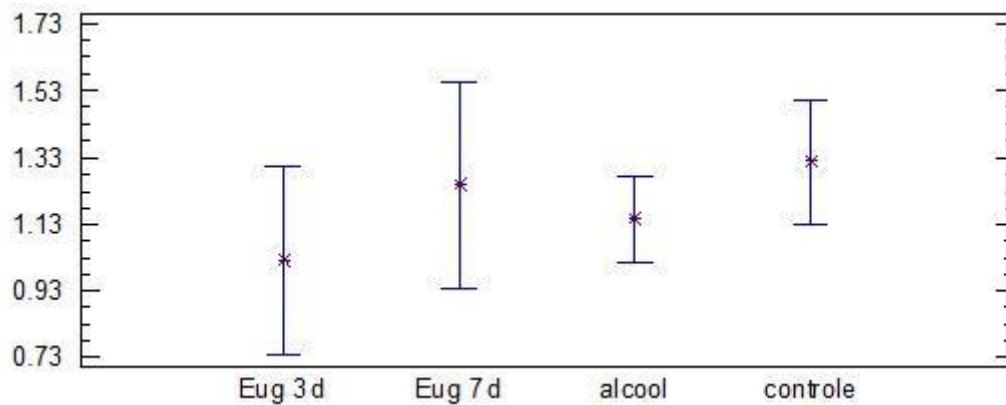
<b>Parâmetros Biométricos aos 3 dias</b>						
Concentração (mg L <sup>-1</sup> )	Peso (g)	CV (%)	C. Padrão (cm)	CV (%)	C. Total (cm)	CV (%)
Controle	74,81±13,02	17,41	13,42±0,62	4,59	16,40±0,80	4,89
0.5	61,54±30,11	48,94	13,18±1,08	8,19	16,31±1,44	8,81
5	70,82±13,38	18,89	13,09±1,06	8,13	16,02±1,02	6,36
<b>Parâmetros Biométricos aos 7 dias</b>						
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

Na análise enzimática, os níveis mensurados para a peroxidação lipídica (LPO) do experimento 1 são apresentados na Figura 1. Durante os sete dias de experimento não houve diferenças significativas ( $p>0,05$ ) nos níveis de LPO mensurados.

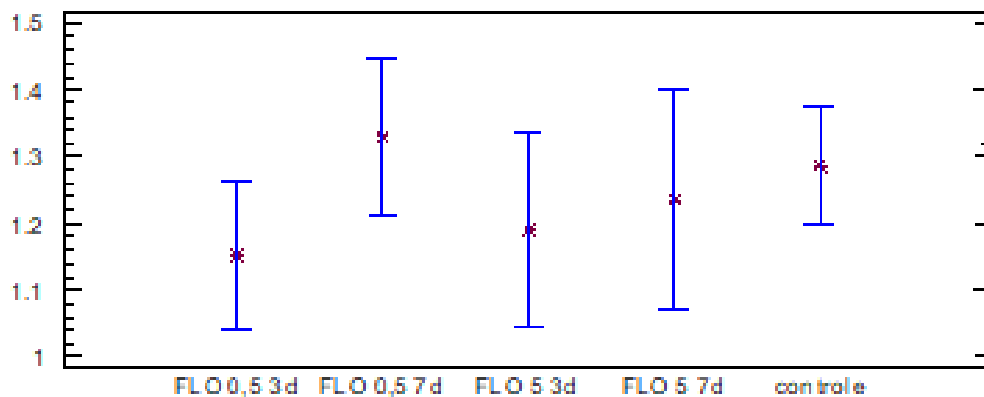


Figura 1. Níveis de peroxidação lipídica no fígado de tilápias em ambiente controlado com concentração subletal de óleo de cravo, três e sete dias após a exposição.



Os níveis mensurados para a peroxidação lipídica (LPO) do experimento 2 são apresentados na Figura 2. Durante os sete dias de experimento não houve diferenças significativas ( $p > 0,05$ ) nos níveis de LPO mensurados.

Figura 2. Níveis de peroxidação lipídica no fígado de tilápias em ambiente controlado com concentração subletal de florfenicol, três e sete dias após a exposição.



Devido ao crescimento da utilização do óleo de cravo no manejo de peixes, estudos estão sendo realizados para testar seu potencial anestésico, assim como o crescente uso do florfenicol no tratamento de bacterioses na piscicultura tem influenciado no desenvolvimento de pesquisas com intuito de testar se a presença desse composto na água de cultivo pode ter influência na alteração da saúde de tilápias do Nilo, evidenciando a importância de se determinar os parâmetros enzimáticos. Dentre esses estudos, temos o de TELES *et al.* (2019), que investigou os efeitos do óleo de cravo e da tricaína metano sulfonato (MS-222) sobre o estado de estresse oxidativo em dourada (*Sparus Aurata L.*) durante o transporte e recuperação, e o de SHIROMA *et al.* (2020), que avaliou os riscos à saúde e ao meio ambiente para juvenis de tilápia (*Oreochromis niloticus*) expostos ao

florfenicol. Apesar desses estudos apresentarem dados diversificados alcançando diferentes parâmetros, é possível utilizar os resultados para comparação e confirmação de que em concentrações residuais ambos os compostos não possuem potencial para alteração nos parâmetros enzimáticos em tilápias, permitindo o uso destes biomarcadores no monitoramento de outros poluentes, sem que haja a interferência dos resíduos desses compostos.

Segundo Lima e Abdalla (2001), a lipoperoxidação (LPO) é considerada um indicador de dano oxidativo aos componentes celulares, é também a fase primária no evento citotóxico que desencadeia uma sequência de lesões nas membranas celulares e lipoproteínas. SHIROMA *et al.* (2020) afirmam que em estudos ecotoxicológicos utilizando organismos aquáticos, o LPO tem sido muito utilizado com intuito de evidenciar o estresse oxidativo em diferentes espécies de peixes expostas a uma variedade de xenobióticos presentes na água, sendo o fígado o principal órgão analisado. Em relação aos peixes submetidos a concentrações subletais de óleo de cravo, não houve diferença significativa, comprovando os resultados de TELES *et al.* (2019); que utilizaram óleo de cravo na concentração de 2,5 mg/L e não verificaram alterações nos níveis de peroxidação lipídica de peixes anestesiados com essa substância.

O uso frequente em doses terapêuticas de florfenicol favorece a ocorrência de concentrações residuais na água sendo importante o monitoramento para garantir a qualidade da água. Segundo SHIROMA *et al.* (2020), a concentração de 11 mg L<sup>-1</sup> de florfenicol foi suficiente para aumentar significativamente os valores de LPO em apenas 48 horas de exposição, evidenciando que o florfenicol pode ter uma ação oxidante no tecido hepático da tilápia do Nilo, influenciando diretamente na causa do estresse oxidativo e, conseqüentemente, em efeitos hepatotóxicos que podem levar a sequelas ou mortalidade de peixes. Já, no presente trabalho, de acordo com a Figura 2, as concentrações testadas foram menores, evidenciando que em concentrações residuais, a resposta enzimática foi diferente das obtidas com concentrações mais altas, dessa forma observou-se que essas concentrações residuais não causam alterações no LPO, permitindo o uso destes biomarcadores no monitoramento de outros poluentes sem a interferência do resíduo de florfenicol. Será necessário avaliar as enzimas catalase e glutathione S - transferase para complementar os testes de padronização dos biomarcadores em peixes para monitoramento da qualidade da água.

#### **4 CONCLUSÃO**

As concentrações residuais de óleo de cravo e do florfenicol avaliados neste estudo não interferem na resposta dos biomarcadores enzimáticos em tilápias.

#### **AGRADECIMENTOS**

Ao CNPq pela bolsa PIBIC concedida e ao "Projeto BRS Aqua, parceria celebrada entre o BNDES e Embrapa, com apoio financeiro do BNDES, SAP/MAPA, contrapartida da Embrapa e apoio do CNPq".

## REFERÊNCIAS

- ADAMS, M. **Biological indicators of aquatic ecosystem stress**. American Fisheries Society. 2002. 656 p.
- BOYER, S. E. *et al.* Effects of the fish anesthetic, clove oil (eugenol), on coral health and growth. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 369, p. 53-57, 2009.
- BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical biochemistry**, v. 72, p. 248-254, 1976.
- BRASIL. 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: 20 mai. 2021.
- CHO, G.K.; HEATH, D. Comparison of tricaine methane sulphonate (MS222) and clove oil anesthesia effects on physiology of juvenile chinook salmon *Oncorhynchus tshawytscha* (Walbaum). **Aquaculture Research**, v. 31, p. 537-546, 2001.
- CUNHA, F. E. A.; ROSA, I. L. Anesthetic effects of clove oil on seven species of tropical reef teleost. **Journal of Fish Biology**, v. 69, p. 1504-1512, 2006.
- 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.
- FAO. O estado da pesca e aquicultura no mundo 2020. **Sustentabilidade em ação**, Roma: FAO, 2020.
- FAO. **The state of world fisheries and aquaculture 2018**: meeting the sustainable development goals. Roma: FAO, 2018. 210 p. Disponível em: <<http://www.fao.org/3/i9540en/I9540EN.pdf>>. Acesso em: 15 mai. 2021.
- 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.
- 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.
- GÓMEZ-OLIVÁN, L.M. *et al.* Genotoxic response and oxidative stress induced by diclofenac, ibuprofen, and naproxen in *Daphnia magna*. **Drug and Chemical Toxicology**, v. 37, n. 4, p. 391-399, 2014.
- 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

JIANG, Z. Y.; WOOLLARD, A. C.; WOLFF, S. P. Lipid hydroperoxide measurement by oxidation of Fe<sup>2+</sup> in the presence of xylenol orange: comparison with the TBA assay and an iodometric method. **Lipids**, v. 26, n. 10, p. 853-856, Oct. 1991.

KEENE, J. L. *et al.* The efficacy of clove oil as an anesthetic for rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). **Aquaculture Research**, v. 29, p. 89-101, 1998.

LIMA, E. S.; ABDALLA, D. S. P. Peroxidação lipídica: mecanismos e avaliação em amostras biológicas. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 37, n. 3, p. 293-303, set./dez. 2001.

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).

PARK, M. O. *et al.* Anaesthetic efficacy and physiological responses to clove oil anaesthetized kelp grouper *Epinephelus bruneus*. **Aquaculture Research**, v. 39, n. 8, p. 877-884, 2008.

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.

SEBRAE. **Aquicultura no Brasil**: série de estudos mercadológicos, Brasília, Distrito Federal, 2015. 71 p.

SHIROMA, L. S. *et al.* Evaluation of health and environmental risks for juvenile tilapia (*Oreochromis niloticus*) exposed to florfenicol. **Heliyon**, v. 6, n. 12, e05716, Dec. 2020.

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

SMALL, B.C. Effect of isoeugenol sedation on plasma cortisol, glucose, and lactate dynamics in channel catfish *Ictalurus punctatus* exposed to three stressors. **Aquaculture**, v. 238, p.469-481, 2004.

TELES, M. *et al.* Transport and Recovery of Gilthead Sea Bream (*Sparus aurata* L.) Sedated with Clove Oil and MS222: Effects on Oxidative Stress Status. **Frontiers in Physiology**, v. 10, article 523, p. 1-10, May 2019.

URBINATI, E. C.; CARNEIRO, P. C. F. **Práticas de manejo e estresse dos peixes em piscicultura Intensiva**. Jan. 2004. Disponível em: <[https://www.researchgate.net/publication/286776959\\_Praticas\\_de\\_manejo\\_e\\_estresse\\_dos\\_peixes\\_em\\_piscicultura](https://www.researchgate.net/publication/286776959_Praticas_de_manejo_e_estresse_dos_peixes_em_piscicultura)>. Acesso em: 22 mai. 2021.

OOST, R. van der; 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.

WALSH, C. T.; PEASE, B. C. The use of clove oil as an anaesthetic for the longfinned eel, *Anguilla reinhardtii* (Steindachner). **Aquaculture Research**, v. 33, p. 627-635, 2002.