



## EFEITO DAS CONCENTRAÇÕES RESIDUAIS DO ÓLEO DE CRAVO E DO FLORFENICOL NOS BIOMARCADORES HEMATOLÓGICOS EM TILÁPIAS

Júlia Lourenço do Nascimento<sup>1</sup>; Juliana Augusta Gil<sup>2</sup>; Fernanda Smaniotto<sup>2</sup>; José Henrique Valim<sup>3</sup>; Márcia Mayumi Ishikawa<sup>4</sup>

Nº 20403

**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 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, considerando 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 não interferem na resposta dos biomarcadores hematológicos em tilápias.

**Palavras-chaves:** *Oreochromis niloticus*, eugenol, antibiótico, poluente, resíduos.

1 Autor, Bolsista CNPq (PIBIC): Graduação em Tecnologia em Processos Químicos, FATEC, Campinas-SP; nascimento.julia.99@gmail.com

2 Colaborador: Bolsista CAPES, Mestranda no Programa Pós Graduação Biologia Animal, UNICAMP, Campinas-SP

3 Colaborador: Analista da Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna-SP.

4 Orientador: Pesquisadora da Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna-SP; marcia.ishikawa@embrapa.br



**ABSTRACT** – *The use of clove oil as an anesthetic in fish management and florfenicol in the treatment of bacteriosis can leave residues in water causing damage to fish and environmental health. Hematological biomarkers are changes in blood parameters detected in organisms exposed to some agent or pollutant in water. Residues of clove oil and florfenicol on water may interfere with hematological biomarkers, impairing their interpretation during water quality monitoring. The objective of this study was to evaluate the effect of residual concentrations of clove oil and florfenicol on water on the response of hematological biomarkers in tilapia. The blood variables were evaluated in juvenile tilapias maintained for three and seven days in an aquarium system with a useful volume of 200 L without water recirculation. Three treatments with three replications were used, each aquarium containing nine tilapias considered as a sampling unit. Experiment 1 was composed of the treatments: control (without diluent and without clove oil), clove oil at a concentration of 0.5mg/L with alcohol diluent at a concentration of 10µL/L and only alcohol diluent at a concentration of 10µL/L. Experiment 2 was composed of the treatments: 0.0 (control); 0.5 mg/L and 5 mg/L florfenicol. The blood variables collected during the two experiments showed no significant difference, as did the water monitoring parameters, such as pH, dissolved oxygen, temperature, conductivity, and total ammonia. Residual concentrations of clove oil and florfenicol do not interfere in the response of hematological biomarkers in tilapia.*

**Keywords:** *Oreochromis niloticus*, eugenol, antibiotic, pollutant, residues

## 1 INTRODUÇÃO

No Brasil, a tilapicultura teve seu início na década de 1970. Embora não seja uma espécie nativa, a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), principal espécie produzida no Brasil, foi introduzida pelo Departamento Nacional de Obras Contra as Secas (DNOCS) 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 4,5% em 2018 com uma produção acima de 722 mil toneladas (PEIXEBR, 2019). 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 (OSTRENSKY; BORGHETTI, SOTO, 2008).



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). 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 Ecossistemas Aquáticos da Embrapa Meio Ambiente localizado em Jaguariúna – SP, entre os meses de outubro e novembro de 2019, ambos executados ao mesmo tempo, porém de forma independente. 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 (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 da região. Ambos experimentos foram inteiramente casualizados, com três tratamentos: o primeiro tratamento o controle (sem adição de óleo de cravo e sem adição do diluente - álcool comum) na água, o segundo tratamento foi 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 terceiro tratamento foi 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; 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.



**Figura 1.** Sistema de aquários dos experimentos sem recirculação de água

### 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), mensurou-se o pH, a temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ ), o oxigênio dissolvido ( $\text{mg L}^{-1}$ ) e a condutividade elétrica ( $\mu\text{Scm}^{-1}$ ). A amônia também foi mensurada diariamente com uso do kit Labcon test.

### 2.4 Análise Hematológica

Após o período de três e sete dias, 3 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  $100 \text{ mg L}^{-1}$  (banho de imersão). A coleta de sangue foi realizada por punção caudal com auxílio de seringas contendo EDTA (3%). Através dessas amostras determinou-se o hematócrito (Htc%) pelo método do microhematócrito segundo GOLDENFARB; BOWYER, BROSIOUS (1971), hemoglobina (Hb;  $\text{g dL}^{-1}$ ) 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 hemocítômetro, em câmara de Neubauer. Após esses procedimentos, os peixes foram eutanasiados por aprofundamento anestésico com benzocaína a  $100 \text{ mg L}^{-1}$ .

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 <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

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 sintomas clínico e 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 <sup>-1</sup> )	Temp. (°C)	pH	OD (mg L <sup>-1</sup> )	Cond. (µScm <sup>-1</sup> )	Amônia (ppm)
Controle	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					
Concentração (mg L <sup>-1</sup> )	Temp. (°C)	pH	OD (mg L <sup>-1</sup> )	Cond. (µScm <sup>-1</sup> )	Amônia (ppm)
Controle	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

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						
Tratamentos	Peso (g)	CV (%)	C. Padrão (cm)	CV (%)	C. Total (cm)	CV (%)
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.

<b>Parâmetros Biométricos aos 3 dias</b>						
<b>Concentração (mg L<sup>-1</sup>)</b>	<b>Peso (g)</b>	<b>CV (%)</b>	<b>C. Padrão (cm)</b>	<b>CV (%)</b>	<b>C. Total (cm)</b>	<b>CV (%)</b>
<b>Controle</b>	74,81±13,02	17,41	13,42±0,62	4,59	16,40±0,80	4,89
<b>0.5</b>	61,54±30,11	48,94	13,18±1,08	8,19	16,31±1,44	8,81
<b>5</b>	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>						
<b>Controle</b>	74,64±7,66	10,27	13,53±1,07	7,90	16,62±1,12	6,76
<b>0.5</b>	74,80±13,02	18,75	13,31±1,23	9,20	16,39±1,32	8,07
<b>5</b>	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.

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



## + Álcool

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 <sup>-1</sup> )	Htc (%)	PPT (g L <sup>-1</sup> )	Hb (g dL)	Erit. (x10 <sup>6</sup> L)	Glicemia(mg dL)
Controle	31,5± 4,45 <sup>a</sup>	4,22± 0,44 <sup>a</sup>	9,92± 1,08 <sup>a</sup>	1,87± 0,49 <sup>a</sup>	44,33± 5,94 <sup>a</sup>
0.5	34,67± 8,67 <sup>a</sup>	4,33± 0,71 <sup>a</sup>	10,85± 1,13 <sup>a</sup>	1,85± 0,50 <sup>a</sup>	45,11± 5,46 <sup>a</sup>
5	35,22± 4,77 <sup>a</sup>	4,11± 0,33 <sup>a</sup>	11,25± 0,71 <sup>a</sup>	1,72± 0,35 <sup>a</sup>	43,11± 11,15 <sup>a</sup>
Variáveis Sanguíneas aos 7 dias					
Controle	29,89± 3,26 <sup>a</sup>	4,33± 0,71 <sup>a</sup>	10,01± 0,62 <sup>a</sup>	2,02± 0,24 <sup>a</sup>	45,89± 9,17 <sup>a</sup>
0.5	31,11± 2,32 <sup>a</sup>	4,22± 0,44 <sup>a</sup>	10,50± 1,59 <sup>a</sup>	2,01± 0,30 <sup>a</sup>	43,0± 8,79 <sup>a</sup>
5	30,33± 1,94 <sup>a</sup>	4,11± 0,60 <sup>a</sup>	10,59± 2,25 <sup>a</sup>	2,08± 1,05 <sup>a</sup>	40,78± 5,17 <sup>a</sup>

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 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, comprovando 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, corroborando com a ausência de estresse nos peixes.

Devido ao crescimento da utilização do óleo de cravo no manejo de peixes, diversos estudos estão sendo realizados para testar seu potencial 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 de óleo de cravo.

Segundo SIMÕES *et al.* (2012), a concentração de 250 mg L<sup>-1</sup> 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 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. Será necessário avaliar os biomarcadores enzimáticos e bioquímicos 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 não interferem na resposta dos biomarcadores hematológicos em tilápias.

#### 5 AGRADECIMENTOS

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

#### 6 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.; BROSIOUS, 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. A.;** 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

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 recreia*. 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.

**OSTRENSKY, A.;** BORGHETTI, J. R.; SOTO, D. *Aquicultura no Brasil: o desafio é crescer*. Brasília: FAO, 2008. 276 p.

**PEIXE BR 2019.** Anuário peixe BR da piscicultura. Disponível em: <<https://www.peixebr.com.br/Anuario2019/AnuarioPeixeBR2019.pdf>>. Acesso em: 22 jul. 2020.

**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](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.