



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE LONDRINA  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
COLEGIADO DO CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS



**Ciências  
Biológicas**  
UEL

---

## **TRABALHO DE CONCLUSÃO DO CURSO DE GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

**SARAH PIRES DE SOUZA**

### **AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DA EXPOSIÇÃO AOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE LAVANDA (*Lavandula angustifolia*) E COPAÍBA (*Copaifera spp.*) NO PEIXE *Prochilodus lineatus***

---

Londrina – Paraná  
2025

**TRABALHO DE CONCLUSÃO DO CURSO DE GRADUAÇÃO  
EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

**SARAH PIRES DE SOUZA**

**AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DA EXPOSIÇÃO AOS  
ÓLEOS ESSENCIAIS DE LAVANDA (*Lavandula  
angustifolia*) E COPAÍBA (*Copaifera spp.*) NO PEIXE  
*Prochilodus lineatus***

Monografia apresentada ao Curso de Graduação em Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Londrina como um dos requisitos à obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas.

**Orientadora: Profa. Dra. Juliana Delatim Simonato**

**Londrina – Paraná  
2025**

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através  
do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

S729a Souza, Sarah Pires de.  
AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DA EXPOSIÇÃO AOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE  
LAVANDA (*Lavandula angustifolia*) E COPAÍBA (*Copaifera spp.*) NO PEIXE  
*Prochilodus lineatus* / Sarah Pires de Souza. - Londrina, 2025. 39 f. : il.

Orientadora: Profa. Dra. Juliana Delatim Simonato.  
Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas) -  
Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Biológicas, Graduação em  
Ciências Biológicas, 2025.  
Inclui bibliografia.

1. Óleo essencial - TCC. 2. Biomarcadores - TCC. 3. Estresse oxidativo - TCC. 4.  
Ecotoxicologia - TCC I. Simonato, Juliana Delatim. II. Universidade Estadual de  
Londrina. Centro de Ciências Biológicas. Graduação em Ciências Biológicas. III.  
Título.

CDU 574

**BANCA EXAMINADORA**

Profa. Dra. Juliana Delatim Simonato

Profa. Dra. Claudia Bueno dos Reis Martinez

Ma. Vanessa Bezerra

Londrina, 18 de fevereiro de 2025.

A vós, meu Senhor, que podais, regais e fazeis  
desabrochar as flores do meu jardim.  
A vós, minha Senhora, que me socorre em  
perigo de pragas e mantém a beleza e a  
pureza dos botões.

## AGRADECIMENTOS

Um momento especial que encerra uma jornada de dedicação, na qual Deus esteve presente e me sustentou, me deu direção, sabedoria, determinação e renovou as minhas forças a cada dia para continuar.

Inicialmente, agradeço a oportunidade de me graduar em Ciências Biológicas na Universidade Estadual de Londrina (UEL), uma universidade pública e conceituada.

Especialmente agradeço a Profa. Dra. Juliana Delatim Simonato, por ter aceitado o desafio de me orientar, sempre com zelo, respeito, compreensão, paciência e incentivo em cada etapa da elaboração deste trabalho. Muito obrigada!

À Vanessa Bezerra, por cuidar de mim no laboratório, por todos os ensinamentos, por toda a dedicação, por todo apoio e por toda paciência.

Aos membros da banca examinadora, Profa. Dra. Claudia Bueno dos Reis Martinez, Ma. Vanessa Bezerra e suplente Prof. Dr. Paulo César Meletti por colaborarem com este trabalho.

A todos do LEFA, pelo acolhimento e contribuições no laboratório, essenciais para o desenvolvimento deste trabalho.

Aos meus amigos do MJC, por me proporcionarem momentos felizes, de amor e de fé.

Aos meus padrinhos: Victória, minha melhor amiga, por estar comigo em toda essa jornada, nos bons e nos maus momentos, por ser minha confidente e minha alegria diária; e ao Gustavo, por todas as conversas enquanto comíamos pastel.

À minha família, especialmente aos meus pais, Evaldo e Aurea, pelo amor, apoio e dedicação em todos os momentos da minha vida, e ao meu irmão Douglas, que com suas impicâncias sempre me motiva a seguir em frente.

E, por fim ao CNPq, pelo apoio financeiro.

“Diante da Sabedoria infinita, mais vale um breve desejo de humildade com algum ato da mesma, do que toda a ciência do mundo.”

**Santa Teresa de Jesus**

SOUZA, Sarah Pires de. **Avaliação dos efeitos da exposição aos óleos essenciais de lavanda (*Lavandula angustifolia*) e copaíba (*Copaifera spp.*) no peixe *Prochilodus lineatus***. 2025. 39 fls. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2025.

## RESUMO

A crescente degradação dos ecossistemas aquáticos, impulsionada pela poluição e o despejo de substâncias químicas, tem gerado preocupações quanto à saúde ambiental e à preservação da biodiversidade. Nesse contexto, a busca da indústria de diferentes setores por soluções naturais, como os óleos essenciais de lavanda (*Lavandula angustifolia*) e copaíba (*Copaifera spp.*), tem ganhado destaque devido às suas propriedades terapêuticas. No entanto, seus possíveis impactos ecológicos em organismos aquáticos ainda são pouco compreendidos. Este estudo teve como objetivo investigar os efeitos desses óleos essenciais em *Prochilodus lineatus*, utilizando biomarcadores para avaliar alterações fisiológicas e bioquímicas. Os peixes foram expostos por 48 horas a  $20 \mu\text{l L}^{-1}$  do óleo essencial de lavanda e  $10 \mu\text{l L}^{-1}$  do óleo essencial de copaíba, com soluções estoque preparadas em álcool 95%, em dois experimentos individuais. Foram realizadas análises hematológicas, metabólicas e osmoiônicas. Além de análises bioquímicas nas brânquias e no fígado, bem como a avaliação da atividade da acetilcolinesterase no cérebro e músculo. Os resultados mostraram aumento da lipoperoxidação no fígado e diminuição de hematócrito no sangue dos peixes expostos ao óleo de lavanda, enquanto o grupo exposto ao óleo de copaíba apresentou aumento da glutatona reduzida e glutatona-S-transferase no fígado e diminuição do volume corpuscular médio. Conclui-se que a exposição ao óleo de lavanda gerou um efeito pró-oxidante, contrastando com a literatura. Já a copaíba indicou uma resposta adaptativa ao estresse oxidativo causado pelo próprio óleo. Esses achados destacam a complexidade dos efeitos dos óleos essenciais, sugerindo cautela em seu uso em organismos aquáticos, considerando concentração e especificidade.

**Palavras-chave:** Biomarcadores. Óleo essencial. Estresse oxidativo. Peroxidação Lipídica. Ecotoxologia

SOUZA, Sarah Pires de. **Evaluation of the effects of exposure to lavender (*Lavandula angustifolia*) and copaiba (*Copaifera spp.*) essential oils on the fish *Prochilodus lineatus*.** 2025. 39 pgs. Final Dissertation (Biological Sciences Undergraduation) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2025.

## ABSTRACT

The increasing degradation of aquatic ecosystems, driven by pollution and the discharge of chemical substances, has raised concerns about environmental health and biodiversity preservation. In this context, the search by various industries for natural solutions, such as lavender (*Lavandula angustifolia*) and copaiba (*Copaifera spp.*) essential oils, has gained attention due to their therapeutic properties. However, their potential ecological impacts on aquatic organisms are still poorly understood. This study aimed to investigate the effects of these essential oils on *Prochilodus lineatus*, using biomarkers to assess physiological and biochemical changes. The fish were exposed for 48 hours to 20  $\mu\text{l L}^{-1}$  of lavender essential oil and 10  $\mu\text{l L}^{-1}$  of copaiba essential oil, with stock solutions prepared in 95% ethanol, in two separate experiments. Hematological, metabolic, and osmoionic analyses were performed, in addition to biochemical analyses in the gills and liver, and acetylcholinesterase activity in the brain and muscle. The results showed an increase in lipid peroxidation in the liver and a decrease in hematocrit in the blood of the fish exposed to lavender oil, while the group exposed to copaiba oil showed an increase in reduced glutathione and glutathione-S-transferase in the liver and a decrease in mean corpuscular volume. We can conclude that exposure to lavender oil resulted in a pro-oxidant effect, contrasting with the literature. On the other hand, copaiba indicated an adaptive response to oxidative stress caused by the oil itself. These findings highlight the complexity of essential oil effects, suggesting caution in their use in aquatic fauna, considering concentration and specificity.

**Keywords:** Biomarkers. Essential oil. Oxidative stress. Lipid peroxidation. Ecotoxicology

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>9</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	<b>11</b>
<b>2.1</b>	<b>Óleos essenciais e seus benefícios</b> .....	<b>11</b>
<b>2.2</b>	<b>Óleo essencial de lavanda</b> .....	<b>12</b>
<b>2.3</b>	<b>Óleo essencial de copaíba</b> .....	<b>13</b>
<b>2.4</b>	<b><i>Prochilodus lineatus</i></b> .....	<b>14</b>
<b>2.5</b>	<b>Biomarcadores</b> .....	<b>15</b>
<b>3</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>18</b>
<b>3.1</b>	<b>Preparação do meio de exposição</b> .....	<b>18</b>
<b>3.2</b>	<b>Animal experimental</b> .....	<b>18</b>
<b>3.3</b>	<b>Delineamento experimental</b> .....	<b>18</b>
<b>3.4</b>	<b>Amostragem</b> .....	<b>19</b>
<b>3.5</b>	<b>Análises Hematológicas, Osmoiônicas e Metabólica</b> .....	<b>20</b>
<b>3.6</b>	<b>Análise de Neurotoxicidade</b> .....	<b>20</b>
<b>3.7</b>	<b>Análises Bioquímicas</b> .....	<b>21</b>
<b>3.7.1</b>	<b>Enzimas Antioxidantes</b> .....	<b>21</b>
<b>3.7.2</b>	<b>Antioxidante Não Enzimático</b> .....	<b>21</b>
<b>3.7.3</b>	<b>Lipoperoxidação (LPO)</b> .....	<b>21</b>
<b>3.8</b>	<b>Proteínas Totais</b> .....	<b>22</b>
<b>3.9</b>	<b>Análise Estatística</b> .....	<b>22</b>
<b>4</b>	<b>RESULTADOS</b> .....	<b>23</b>
<b>5</b>	<b>DISCUSSÃO</b> .....	<b>28</b>
<b>6</b>	<b>CONCLUSÕES</b> .....	<b>31</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>33</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A crescente degradação dos ecossistemas aquáticos, impulsionada por fatores como a poluição, o despejo de substâncias químicas no ambiente e as mudanças climáticas, tem gerado preocupações significativas quanto à saúde ambiental e à preservação da biodiversidade (Lacerda; Malm, 2008). Nesse cenário, a busca das indústrias de todos os setores, por produtos naturais que possam mitigar os efeitos nocivos desses fatores no ecossistema tem se intensificado (Bakkali *et al.*, 2008).

Entre essas soluções, produtos naturais como os óleos essenciais de lavanda (*Lavandula angustifolia*) e de copaíba (*Copaifera spp.*), têm ganhado destaque por suas reconhecidas propriedades terapêuticas (Cardia *et al.*, 2018; Arruda *et al.*, 2019). No entanto, enquanto seus benefícios em seres humanos são bem documentados, os impactos ecológicos desses compostos, especialmente em organismos aquáticos, são mais recentes e pouco compreendidos (Ferraz *et al.*, 2022).

A introdução de substâncias naturais em ambientes aquáticos, mesmo aquelas consideradas seguras para uso humano, pode desencadear efeitos positivos ou adversos para a fauna aquática. Por exemplo, o óleo essencial de lavanda é amplamente conhecido por suas qualidades calmantes e sedativas, além de suas propriedades antissépticas e anti-inflamatórias, que o tornam popular na aromaterapia (Cazenave; Amé; Menone, 2021). O óleo essencial de copaíba, por sua vez, destaca-se por suas propriedades anti-inflamatórias, cicatrizantes e bactericidas (Cazenave; Amé; Menone, 2021). Todavia, poucos estudos investigam os efeitos dessas substâncias na saúde de peixes e outros organismos aquáticos (Frazão *et al.*, 2024).

Entre os mecanismos de dano celular em organismos aquáticos, o estresse oxidativo destaca-se como um dos principais, resultante do desequilíbrio entre a produção de espécies reativas de oxigênio (ERO) e a capacidade antioxidante do organismo (Amiard-Triquet; Amiard; Rainbow, 2012). Esse desequilíbrio pode levar à oxidação lipídica, danos ao DNA e disfunção celular, comprometendo a viabilidade e a sobrevivência dos organismos (Amiard-Triquet; Amiard; Rainbow, 2012). Embora seja conhecido que os óleos essenciais possuem propriedades antioxidantes, ainda faltam estudos com diferentes concentrações que indiquem se esses compostos podem desempenhar um papel de proteção ou de reversão do estresse oxidativo em organismos aquáticos.

Diante dessas incertezas, o objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos dos óleos essenciais de lavanda e copaíba em *Prochilodus lineatus*, buscando identificar alterações bioquímicas e fisiológicas associadas à exposição.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Óleos essenciais e seus benefícios

Os óleos essenciais são substâncias odoríferas e altamente voláteis, presentes em plantas. Devido à sua volatilidade, essas substâncias podem ser isoladas por meio de destilação a vapor de uma planta aromática de uma única espécie botânica e podem ser detectadas tanto pelo cheiro quanto pelo gosto (Hyldgaard; Mygind; Meyer, 2012). Existem várias definições de óleos essenciais, mas a mais precisa é provavelmente a proposta por Turek e Stintzing (2013): “Óleos essenciais são produtos ou misturas de produtos, que são formados no citoplasma e estão normalmente presentes na forma de pequenas gotículas entre as células. Eles são voláteis e aromáticos”.

As plantas produzem óleos essenciais naturalmente como metabólitos secundários em resposta ao estresse, como uma defesa contra ataques de patógenos e para atrair polinizadores que desempenham um papel essencial na reprodução da planta (Roohinejad; Koubaa; Barba, 2017). Esses compostos, que incluem principalmente terpenoides e alguns outros não terpenoides, como o fenilpropano, têm ampla aplicação em condimentos alimentares, perfumes, cosméticos e medicamentos (Diniz *et al.*, 2020).

O interesse crescente por produtos naturais, considerados mais seguros, tem aumentado a demanda por óleos essenciais nos últimos anos, e suas aplicações estão agora difundidas em diversos setores, como alimentos, agricultura, produtos farmacêuticos, cosméticos e têxteis (Jugreet *et al.*, 2020). Esse interesse crescente da indústria também é acompanhado pelo aumento da pesquisa científica, que tem levado à descoberta de novos compostos e aplicações. Entre essas novas aplicações, destacam-se as que abordam problemas de saúde urgentes, como a resistência antimicrobiana, doenças transmitidas por vetores e câncer (Zhang *et al.*, 2020).

Produtos naturais, incluindo óleos essenciais, foram recentemente reconhecidos como aliados importantes no desenvolvimento de produtos com propriedades antibacterianas, que podem ser usados como alternativa aos antibióticos (Abdelli *et al.*, 2018; Tavares *et al.*, 2020). Além disso, os óleos essenciais têm demonstrado benefícios significativos para a saúde, incluindo a prevenção de doenças crônicas e infecciosas. Eles melhoram o apetite, a digestão e regulam as características da flora intestinal (Franz; Baser; Windisch, 2010).

Recentemente, o potencial antioxidante dos óleos essenciais tem sido intensamente estudado e sugerido para desempenhar um papel importante como antidiabético, anti-inflamatório, anti-hiperlipidêmico, anti-hipertensivo e na prevenção de outras doenças crônicas. Essas doenças geralmente podem agravar o dano oxidativo celular causado por radicais livres, e os óleos essenciais têm se mostrado promissores na mitigação desses efeitos (Chen *et al.*, 2023).

Por outro lado, estudos têm demonstrado que, além de suas propriedades terapêuticas, os óleos essenciais são capazes de reduzir o estresse oxidativo em peixes. Por exemplo, a utilização do óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* foi associada à redução do estresse oxidativo e à manutenção da atividade de enzimas importantes, como a creatina quinase esplênica, uma enzima envolvida no metabolismo energético do baço, sendo útil na saúde de organismos aquáticos (Baldissera *et al.*, 2017; Baldissera; Souza; Baldisserotto, 2018). Isso sugere que óleos essenciais podem prevenir danos oxidativos e alterar respostas fisiológicas associadas ao estresse (Freitas-Souza *et al.*, 2019).

No caso do óleo de *Lippia alba* (quimiotipos citral e linalol), o efeito anestésico provocado pelo linalol, promoveu redução do cortisol plasmático em peixes como o jundiá (*Rhamdia quelen*) e alterou a expressão de hormônios do eixo hipotálamo-pituitária-interrenal (Cunha *et al.*, 2010; Freitas-Souza *et al.*, 2018), também demonstrando a eficácia desses compostos em terapias aquáticas. Além disso, certos óleos essenciais possuem propriedades lipofílicas, permitindo-lhes atravessar facilmente as membranas biológicas, incluindo a barreira hematoencefálica, e afetar o sistema nervoso central, potencializando seus efeitos sedativos e anestésicos (Zahl; Samuelsen; Kiessling, 2012; Manayi *et al.*, 2016).

Em um cenário ainda mais promissor, o aumento de estudos dos potenciais dos óleos essenciais para diminuir os danos causados por estressores ambientais, ao proporcionar alívio de estresse tanto biológico quanto físico, pode contribuir para a preservação da saúde de organismos aquáticos.

## **2.2 Óleo essencial de lavanda**

Lavanda (*Lavandula angustifolia*), uma planta com flores da família *Lamiaceae*, é amplamente reconhecida por suas propriedades terapêuticas. O óleo essencial extraído dessa planta possui efeitos sedativos, antidepressivos, antiespasmódicos,

antibacterianos e anestésicos locais (Can; Sümer, 2019). Esses compostos voláteis são produzidos em estruturas especializadas na superfície das folhas e flores, conhecidas como tricomas glandulares, que consistem em uma célula secretora conectada a um saco de armazenamento de óleo por um caule (Huang; Yagura; Chen, 2008).

Como erva medicinal, a lavanda é conhecida por seus efeitos anti-inflamatórios, antioxidantes e hepatoprotetores (Cardia *et al.*, 2018). Esses benefícios estão relacionados aos compostos bioativos, como cineol e linalol, presentes na composição bioquímica do extrato de lavanda, sendo os principais responsáveis por esses efeitos (Yousefi *et al.*, 2020).

Estudos indicam que a lavanda pode exercer efeitos benéficos também em organismos aquáticos. Por exemplo, há evidências de que o extrato de lavanda aumenta o número de células fagocíticas e melhora as atividades fagocíticas, respiratórias e de peroxidase de leucócitos renais em peixes (Fazio *et al.*, 2017). Isso sugere que a lavanda tem o potencial de atuar como um estimulante da saúde dos peixes, promovendo o fortalecimento do sistema imunológico.

Embora existam estudos sobre os efeitos do óleo essencial de lavanda em organismos aquáticos, ainda há uma lacuna significativa na literatura sobre os impactos negativos desse óleo em peixes expostos a diferentes concentrações, o que indica a necessidade de mais investigações para explorar essa área.

### **2.3 Óleo essencial de copaíba**

Os óleos essenciais de copaíba são oleorresinas extraídas do tronco de árvores de várias espécies do gênero *Copaifera L.* Essas oleorresinas têm sido tradicionalmente utilizadas por povos indígenas da Amazônia como agentes curativos, antimicrobianos e anti-inflamatórios (Veiga Junior; Pinto, 2002). Atualmente, esses óleos são comercializados em farmácias e mercados populares em todo o Brasil, e algumas de suas propriedades foram confirmadas por estudos farmacológicos, como suas atividades anti-inflamatórias (Veiga Junior *et al.*, 2007), gastroprotetoras (Paiva *et al.*, 1998) e antitumorais (Lima *et al.*, 2003).

A oleorresina de copaíba é um líquido cuja viscosidade e cor variam de amarelo a marrom claro. Essa substância é composta por uma fase sólida ou resina, que consiste principalmente em diterpenos ácidos, e por uma parte volátil de óleo, composta por uma mistura de sesquiterpenos (Maia *et al.*, 2010; Lemos *et al.*, 2015). Devido à sua

composição química complexa, essa oleorresina tem sido amplamente utilizada na medicina popular, e a maioria dos estudos publicados se concentra em suas propriedades farmacológicas e composição química (Frazão *et al.*, 2024).

Mais recentemente, o óleo essencial de copaíba foi investigado por suas propriedades anti-inflamatórias, com estudos mostrando a supressão de citocinas pró-inflamatórias em macrófagos. Esse efeito é atribuído à presença de sesquiterpenos, como  $\beta$ -cariofileno,  $\alpha$ -copaeno e  $\alpha$ -humuleno, que foram associados a atividades anti-inflamatórias (Urasaki *et al.*, 2020).

Apesar do uso difundido e das pesquisas significativas, a falta de padronização do produto continua sendo um desafio. Isso resulta em dificuldades na replicação dos ensaios biológicos e na garantia de segurança do produto. Além disso, há uma escassez de relatórios fitoquímicos e biológicos de outras partes da planta, o que evidencia a necessidade de mais estudos para atualizar as informações publicadas e contribuir para o avanço das pesquisas científicas de produtos naturais (Arruda *et al.*, 2019).

#### **2.4 *Prochilodus lineatus***

*Prochilodus lineatus* (Fig. 1), também conhecido como “curimbatá” ou “curimba”, é uma espécie de peixe pertencente à ordem *Characiformes* e à família *Prochilodontidae*. Esta espécie neotropical é amplamente distribuída no Brasil e é uma das espécies nativas mais comuns no rio Paraná (Leite *et al.*, 2020). Além disso, *P. lineatus* é de grande importância comercial no sul do Brasil, devido à sua facilidade de reprodução em pisciculturas (Pereira; Fernandes; Martinez, 2013).

O *P. lineatus* possui um porte médio a grande, podendo alcançar até 80 cm. Apresenta um hábito alimentar detritívoro, ou seja, alimenta-se de partículas orgânicas encontradas no fundo dos corpos de água. É exposto diretamente a poluentes depositados no sedimento e substâncias diluídas na água como resultado desse hábito alimentar (Colombo *et al.*, 2007; Barrios *et al.*, 2020). A adaptação fisiológica e anatômica da espécie permite a coleta e digestão eficaz de detritos orgânicos (Barrios *et al.*, 2020).

Devido à sua sensibilidade a uma variedade de contaminantes, *P. lineatus* é amplamente utilizado como modelo experimental em estudos ecotoxicológicos (Lunardelli *et al.*, 2018; Vieira *et al.*, 2018). Em geral, os peixes podem ser bons bioindicadores porque são expostos diretamente a contaminantes de uma variedade de

naturezas diferentes, o que permite avaliar a qualidade do ambiente aquático (Chovanec; Hofer; Schiemer, 2003).

Em estudos ecotoxicológicos, a utilização do *P. lineatus* e outros organismos aquáticos garante o estabelecimento de concentrações máximas seguras de substâncias tóxicas na água. Isso protege a saúde dos ecossistemas aquáticos e dos seres vivos que dependem deles (Pereira; Fernandes; Martinez, 2013).

**Figura 1** – Exemplar juvenil de *Prochilodus lineatus*



**Fonte:** Própria autora.

## 2.5 Biomarcadores

Análises de biomarcadores são essenciais para entender os efeitos de compostos específicos sobre os organismos, revelando alterações bioquímicas, histológicas e fisiológicas em relação ao estado normal quando expostos a xenobióticos (Van Der Oost; Beyer; Vermeulen, 2003). Entre os biomarcadores mais sensíveis, tanto em animais quanto em plantas, estão aqueles que indicam estresse oxidativo. Este estresse ocorre quando há um desequilíbrio entre a produção e a neutralização de espécies reativas de oxigênio (ERO) por mecanismos antioxidantes (Cazenave, Amé; Menone, 2021). Eles podem ser classificados como biomarcadores de dano, como alterações no DNA, e biomarcadores de defesa, como sistemas antioxidantes (De Lafontaine *et al.*, 2000).

O uso de biomarcadores em estudos ambientais é fundamental para identificar sinais precoces de danos em ecossistemas aquáticos, permitindo a adoção de medidas preventivas antes que prejuízos irreversíveis ocorram (Nikinmaa, 2014; Amiard-Triquet;

Amiard; Rainbow, 2012). Muitos contaminantes ambientais aumentam a produção de ERO, como o ânion superóxido ( $O_2^-$ ), o radical hidroxila ( $OH^\cdot$ ) e o peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ).

Os sistemas antioxidantes atuam para mitigar os efeitos do estresse oxidativo. Esses sistemas incluem enzimas como a catalase (CAT), que converte peróxido de hidrogênio em água e oxigênio. Além disso, a glutatona (GSH), um antioxidante não enzimático, desempenha papel crucial na eliminação de radicais livres no interior celular (Amiard-Triquet; Amiard; Rainbow, 2012; Armstrong, 2002).

A Lipoperoxidação (LPO) representa um dos principais indicadores de danos oxidativos. Ela ocorre devido à reação de ERO com lipídeos de membrana, gerando produtos como o malondialdeído (MDA), que pode se ligar ao ácido tiobarbitúrico (TBA), formando um complexo cromogênico que é quantificado no ensaio TBARS. Alterações na concentração de MDA fornecem evidências de danos oxidativos e da eficácia dos mecanismos antioxidantes (Monteiro *et al.*, 2006; Amiard-Triquet; Amiard; Rainbow, 2012).

A enzima glutatona-S-transferase (GST) é outro biomarcador relevante no contexto de estresse oxidativo, desempenhando um papel fundamental na conjugação da GSH com compostos eletrofílicos, facilitando sua detoxificação e excreção do organismo. Além da sua função principal na detoxificação de xenobióticos (substâncias estranhas ao organismo), as isoformas da GST também estão envolvidas na proteção celular contra danos causados pela peroxidação lipídica. Isso ocorre porque a GST ajuda a prevenir a formação de produtos reativos gerados pela reação de ERO com lipídeos de membrana, colaborando para a manutenção da integridade celular (Nikinmaa, 2014).

Além dos biomarcadores de estresse oxidativo, a atividade da enzima acetilcolinesterase (AChE) é um parâmetro sensível frente a exposição a xenobióticos. A AChE é uma enzima fundamental no sistema nervoso dos peixes, responsável pela degradação do neurotransmissor acetilcolina em colina e ácido acético. Esse processo é essencial para a regulação da transmissão sináptica e para o funcionamento adequado do sistema nervoso. A inibição da AChE por xenobióticos, como pesticidas e compostos organofosforados, é amplamente utilizada como um indicativo de efeitos neurotóxicos em organismos aquáticos, ajudando a avaliar impactos na função neuromuscular dos peixes. Mudanças na atividade da AChE, como uma diminuição de sua atividade, são frequentemente associadas à exposição a esses compostos, refletindo possíveis danos à função neurológica e muscular dos organismos (Vieira *et al.*, 2018; Cajaraville *et al.*,

2000).

Os biomarcadores hematológicos, como hematócrito (Hct), concentração de hemoglobina (Hb) e número de eritrócitos (RBC), também são bastante utilizados, pois refletem o transporte de oxigênio e a integridade do sistema circulatório dos peixes. A exposição a agentes estressores pode desencadear respostas compensatórias, incluindo a liberação de eritrócitos na corrente sanguínea para aumentar a oxigenação dos tecidos (Harter; Brauner, 2017). No entanto, a exposição a certas substâncias pode inibir a eritropoiese ou causar hemólise, resultando em anemia (Witeska, 2015).

Já os biomarcadores osmo-iônicos são essenciais para avaliar a regulação iônica dos peixes, uma vez que esses organismos precisam manter a homeostase eletrolítica em diferentes condições ambientais. O equilíbrio de íons como sódio ( $\text{Na}^+$ ), potássio ( $\text{K}^+$ ), cloreto ( $\text{Cl}^-$ ) e cálcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ) é fundamental para funções fisiológicas vitais, incluindo a atividade neuromuscular e o transporte de água através das membranas celulares (Evans; Piermarini; Choe, 2005; Hwang, 2011). Alterações nesses íons podem indicar impactos na osmorregulação e no equilíbrio hidroeletrolítico, sendo, portanto, biomarcadores relevantes na exposição a substâncias químicas (Atli; Canli, 2013).

Por fim, os biomarcadores metabólicos, como a glicose plasmática, fornecem informações sobre a resposta ao estresse fisiológico. Quando um organismo enfrenta um agente estressor, ocorre a liberação de catecolaminas (adrenalina e noradrenalina) e cortisol, promovendo a mobilização de energia por meio da quebra do glicogênio hepático e o consequente aumento da glicemia (Schreck *et al.*, 2016). Em peixes, essa resposta pode afetar a osmorregulação, uma vez que o cortisol também regula a função das células ricas em mitocôndrias nas brânquias, influenciando a captação e excreção de íons (Wendelaar Bonga, 2011).

Em síntese, os biomarcadores abordados são essenciais para avaliar os efeitos de contaminantes em organismos aquáticos, fornecendo informações significativas para o monitoramento da qualidade ambiental e para a previsão de possíveis mudanças ecológicas adversas.

Com isso, a busca por alternativas que minimizem impactos ambientais e auxiliem na recuperação de organismos expostos a agentes estressores torna-se fundamental. De acordo com o exposto, os óleos essenciais podem representar uma boa alternativa, devido às suas propriedades antioxidantes e ao potencial de mitigar danos fisiológicos causados por estressores ambientais.

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Preparação do meio de exposição

Os óleos essenciais foram adquiridos comercialmente da empresa doTERRA®. Para preparar as soluções, os óleos essenciais foram dissolvidos em uma proporção de 1:10 em álcool etílico a 95%. Antes dos experimentos de exposição, foram preparadas soluções estoque com uma concentração de 10% dos óleos essenciais de lavanda e de copaíba. A concentração adicionada aos aquários foi de 20  $\mu\text{l L}^{-1}$  para o óleo de lavanda e de 10  $\mu\text{l L}^{-1}$  para o óleo essencial de copaíba.

Essa concentração foi escolhida com base em estudos que avaliaram a eficiência anestésica dos óleos. Foi observado que o óleo essencial de lavanda não apresenta eficiência anestésica nas concentrações de 5 e 10  $\mu\text{l L}^{-1}$ , enquanto a concentração de 200  $\mu\text{l L}^{-1}$  causa sedação profunda nos peixes (Metin *et al.*, 2022). Logo, a concentração definida para o óleo de lavanda corresponde a um valor 10 vezes menor que a mínima necessária para induzir anestesia. Para o óleo essencial de copaíba, a concentração utilizada foi baseada na do óleo de lavanda, mas reduzida pela metade. Essa decisão considerou a necessidade de uma abordagem cautelosa, uma vez que há menos estudos sobre seus efeitos em peixes.

#### 3.2 Animal experimental

32 exemplares juvenis de *P. lineatus* ( $13,06 \pm 0,79$  g;  $11,48 \pm 0,20$  cm) foram adquiridos comercialmente da Piscicultura Schneider, Toledo, Paraná. Todos os procedimentos realizados com os animais nesse trabalho foram aprovados pela Comissão de Ética em Experimentação Animal da Universidade Estadual de Londrina (CEUA n° 016.2022).

#### 3.3 Delineamento experimental

Os animais adquiridos foram aclimatados durante 7 dias, em tanques de 500 L contendo água desclorada, com renovação parcial da água a cada 48 h, foram mantidos sob aeração constante e foram alimentados a cada 48 h com ração comercial. Durante a aclimação, a temperatura média da água dos aquários foi de

23,38 ± 1,20 °C, o oxigênio dissolvido foi de 6,66 ± 0,92 mg/L DO, e o pH de 6,80 ± 0,48.

Em seguida à aclimação, os experimentos foram realizados durante 48h de exposição. Para o primeiro experimento, 16 animais foram divididos de forma aleatória em um grupo controle (CTR1), exposto apenas à água desclorada, e outro grupo experimental exposto à 20 µl L<sup>-1</sup> de óleo essencial de lavanda (LAV). No segundo experimento, de forma semelhante, 16 animais foram divididos em um grupo controle (CTR2), exposto apenas à água desclorada, e outro grupo experimental exposto à 10 µl L<sup>-1</sup> de óleo essencial de copaíba (COP).

Cada grupo foi composto por 8 indivíduos, subdivididos em 2 aquários de vidro de 40 L, contendo água desclorada e aerada continuamente. Durante os experimentos, a temperatura, o oxigênio dissolvido e pH da água dos aquários foram monitorados, conforme tabela 1.

**Tabela 1** – Parâmetros da água durante o experimento

Parâmetro	CTR1	LAV	CTR2	COP
Temperatura (°C)	22,62 ± 0,77	22,40 ± 0,79	24,17 ± 0,85	23,72 ± 0,93
pH	6,91 ± 0,40	6,59 ± 0,32	7,06 ± 0,35	6,90 ± 0,55
Oxigênio Dissolvido (mg/L DO)	8,16 ± 1,44	7,18 ± 0,88	6,38 ± 0,37	6,14 ± 0,38

**Fonte:** Dados da pesquisa (2025).

### 3.4 Amostragem

Após a exposição, os peixes foram retirados dos aquários e imediatamente anestesiados com benzocaína (0,1 g L<sup>-1</sup>). Em seguida, foi realizada a coleta de sangue pela veia caudal. Foram realizadas análises hematológicas com o sangue total, e uma alíquota foi centrifugada (1870 g; 10min) para obtenção do plasma que foi armazenado a -20 °C para a realização das análises osmônticas e metabólica. Então, foi realizada nos animais a eutanásia por secção medular para a remoção das brânquias, fígado, cérebro e músculo, que foram congelados a -70 °C até o momento das análises bioquímicas.

### 3.5 Análises Hematológicas, Osmoiônicas e Metabólica

A concentração de Hb foi determinada pelo método colorimétrico da cianometahemoglobina, utilizando um kit comercial (Labtest Diagnóstica) e medida a 540 nm em espectrofotômetro. O Hct foi medido pela porcentagem de células vermelhas em relação ao volume sanguíneo total, utilizando o método de microhematócrito por centrifugação (1200 g, 7 min) e análise em cartão apropriado. O RBC foi quantificado adicionando a amostra (5  $\mu\text{L}$  de sangue em 1 mL de tampão formol-citrato - citrato de sódio 130 mM em formaldeído 0,4%) a uma câmara de Neubauer para contagem no microscópio óptico, na objetiva de 40x. Outros índices como o Volume Corpuscular Médio (VCM), a Hemoglobina Corpuscular Média (HCM) e a Hemoglobina Corpuscular Média por Volume (VHCM), também foram calculados para avaliar as características das hemácias e a capacidade de transporte de oxigênio. O VCM foi calculado a partir da fórmula  $\text{VCM} = (\text{Hematócrito (\%)} \times 10) / \text{RBC}$ . O HCM foi obtido pela fórmula  $\text{HCM} = (\text{Hemoglobina (g/dL)} \times 10) / \text{RBC}$ . O VHCM foi calculado dividindo a hemoglobina (g/dL) pelo Volume Corpuscular Médio (%).

O plasma foi analisado no fotômetro de chama para determinar as concentrações de  $\text{Na}^+$  e  $\text{K}^+$ , utilizando curvas de calibração com soluções padrão para ambas as análises. A concentração de  $\text{Cl}^-$  foi medida por método colorimétrico em espectrofotômetro a 470 nm, utilizando kit comercial (Labtest Diagnóstica). A concentração de  $\text{Ca}^{2+}$  também foi determinada utilizando kit comercial (Labtest Diagnóstica) e medida por método colorimétrico em espectrofotômetro 570 nm.

Para as análises metabólicas, foi avaliada a concentração plasmática de glicose utilizando o método enzimático da glicose-oxidase com Kit comercial (Doles), medido em espectrofotômetro a 505 nm.

### 3.6 Análise de Neurotoxicidade

Após a homogeneização de amostras de músculo e cérebro em tampão de fosfato de potássio 0,1 M, pH 7,5, (1:10), as amostras foram centrifugadas a 16000 g, por 20 minutos a 4°C. O método descrito por Ellman *et al.* (1961) foi usado para medir a atividade da AChE, utilizando o sobrenadante. O método foi modificado por Costa *et al.* (2007) para ser lido por um espectrofotômetro de microplacas (Victor TM3, Perkin Elmer, EUA) a 415 nm. A quantificação da atividade da AChE foi

avaliada pelo produto gerado da degradação do iodeto de acetilcolina que reage com o DTNB formando nitrobenzoato, que foi mensurado em 0, 3 e 6 minutos. A atividade foi expressa em  $\text{nmol DTNB min}^{-1} \text{mg proteína}^{-1}$ .

### 3.7 Análises Bioquímicas

#### 3.7.1 Enzimas Antioxidantes

Segundo descrito por Beutler (1975), a atividade da CAT no fígado e nas brânquias foi determinada através da velocidade da decomposição de  $\text{H}_2\text{O}_2$  pela enzima, sendo avaliado o decréscimo de absorbância em 240 nm. Essa atividade foi expressa em  $\mu\text{mol de H}_2\text{O}_2 \text{ min}^{-1} \text{mg de proteína}^{-1}$ .

Já a atividade da GST do fígado e das brânquias, foi determinada seguindo-se a complexação da GSH com o 1-cloro-2,4-dinitrobenzeno (CDNB), em 340 nm, e expressa em  $\text{nmol CDNB conjugado min}^{-1} \text{mg de proteína}^{-1}$  (Gagné, 2014).

#### 3.7.2 Antioxidante Não Enzimático

Segundo o método de Beutler, Duron e Kelly (1963), a quantidade de GSH das amostras de fígado e brânquia foi determinada através da reação da glutatona com o substrato 5,5'-ditiobis-2-ácido nitrobenzóico (DTNB), formando o tiolato (TNB), que foi quantificado em 412 nm e expressa em  $\mu\text{g de GSH mg de proteína}^{-1}$ .

#### 3.7.3 Lipoperoxidação (LPO)

A LPO do fígado e da brânquia foi definida pela quantificação do MDA que é um dos produtos da LPO. Para isso, foi utilizado o ensaio TBARS para medir as substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBA), em espectrofotômetro de fluorescência com excitação em 535 nm e emissão em 590 nm (Camejo *et al.*, 1998). A LPO foi expressa em equivalentes de MDA como  $\text{nmol de TBARS mg de proteína}^{-1}$ .

### **3.8 Proteínas Totais**

A concentração de proteínas das amostras de fígado, brânquia, cérebro e músculo foram determinadas utilizando o método descrito por Bradford (1976b). Este método se baseia na reação das proteínas da amostra com o corante Coomassie Brilliant Blue G-250. A albumina de soro bovino (BSA) foi o padrão e a absorção foi determinada por uma leitora de microplacas (Bio-Tek Instruments, ELX 800) a 595 nm.

### **3.9 Análise Estatística**

Inicialmente, foi comparado os grupos CTR1 x LAV e CTR2 x COP, foi realizada uma análise descritiva, seguida pela avaliação de normalidade e homogeneidade de variâncias dos dados. A normalidade foi verificada por meio do teste de Shapiro-Wilk e a homogeneidade de variâncias foi avaliada pelo teste de Levene. Quando os dados apresentaram distribuição normal e homogeneidade de variâncias, utilizou-se o teste t de Student. Caso contrário, foi aplicado o teste de Welch. O nível de significância adotado foi de 5%.

## 4 RESULTADOS

A maioria dos parâmetros hematológicos e plasmáticos avaliados não apresentou diferenças estatisticamente significativas entre os grupos controle e expostos aos óleos essenciais, indicando que, sob as condições experimentais avaliadas, os compostos testados não promoveram alterações expressivas nesses biomarcadores. No entanto, foi observado que o Hct apresentou uma redução significativa nos peixes expostos à LAV em relação ao grupo controle correspondente (Tabela 2). Por fim, o VCM dos peixes expostos à COP demonstrou uma diminuição significativa quando comparado ao grupo CTR2 (Tabela 3), indicando um impacto desse óleo essencial sobre o volume médio das hemácias.

**Tabela 2** – Parâmetros Plasmáticos avaliados em *Prochilodus lineatus* expostos à água desclorada (CTR1) e ao óleo essencial de lavanda (LAV). (n=7-8). O \* indica diferença estatística entre os grupos

Parâmetro	CTR1	LAV	Valor de p
Hematócrito (%)	34,57 ± 1,04	29,42 ± 1,36	0,017*
Hemoglobina (g dL <sup>6</sup> )	8,69 ± 0,29	7,94 ± 0,31	0,107
RBC (10 <sup>6</sup> .mm <sup>3</sup> )	2,14 ± 0,06	1,97 ± 0,10	0,196
VCM (µm <sup>3</sup> )	170,78 ± 7,70	159,99 ± 8,71	0,37
HCM (pg/célula)	40,69 ± 1,84	40,84 ± 2,06	0,958
CHCM (%)	24,41 ± 0,89	25,92 ± 1,55	0,418
Glicose (mg dL <sup>-1</sup> )	79,46 ± 2,83	86,40 ± 2,24	0,075
Sódio (mM)	152,41 ± 5,02	159,51 ± 1,98	0,235
Potássio (mM)	2,63 ± 0,19	3,11 ± 0,10	0,063
Cloreto (mM)	108,45 ± 3,59	111,59 ± 3,65	0,581
Cálcio (mM)	1,45 ± 0,09	1,45 ± 0,08	0,968

**Fonte:** Dados da pesquisa (2025).

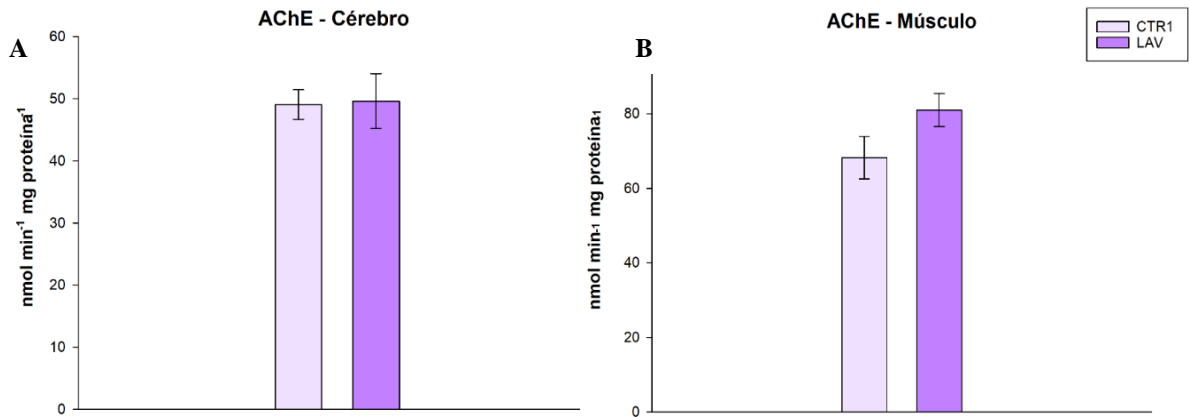
**Tabela 3** – Parâmetros Plasmáticos avaliados em *Prochilodus lineatus* expostos à água desclorada (CTR2) e ao óleo essencial de copaíba (COP). (n=7-8). O \* indica diferença estatística entre os grupos

Parâmetro	CTR2	COP	Valor de p
Hematócrito (%)	25,57 ± 1,19	22,62 ± 1,48	0,154
Hemoglobina (g dL <sup>6</sup> )	6,71 ± 0,35	7,29 ± 0,59	0,419
RBC (10 <sup>6</sup> .mm <sup>3</sup> )	1,21 ± 0,11	1,36 ± 0,09	0,328
VCM (µm <sup>3</sup> )	202,65 ± 7,70	155,98 ± 8,71	0,004*
HCM (pg/célula)	57,93 ± 5,00	55,39 ± 6,13	0,753
CHCM (%)	28,45 ± 1,58	32,57 ± 2,43	0,176
Glicose (mg dL <sup>-1</sup> )	79,58 ± 2,46	82,07 ± 3,21	0,549
Sódio (mM)	153,33 ± 6,96	157,19 ± 6,54	0,692
Potássio (mM)	4,06 ± 0,14	3,93 ± 0,26	0,676
Cloreto (mM)	117,29 ± 10,4	126,58 ± 6,72	0,469
Cálcio (mM)	0,97 ± 0,09	1,07 ± 0,09	0,486

**Fonte:** Dados da pesquisa (2025).

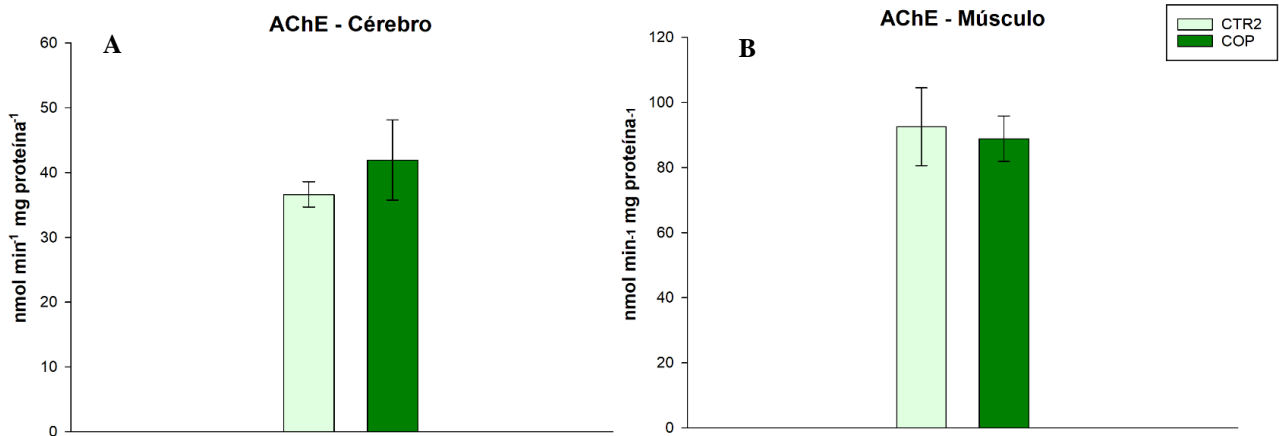
Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas na atividade da AChE em nenhum dos tecidos analisados, tanto dos grupos expostos aos óleos essenciais de lavanda e copaíba. As Figuras 2 e 3 apresentam os dados obtidos para essa análise.

**Figura 2** – Atividade da acetilcolinesterase (AChE) no cérebro e no músculo de *Prochilodus lineatus* expostos à água desclorada (CTR1) e ao óleo essencial de lavanda (LAV). A: atividade da AChE no cérebro; B: atividade da AChE no músculo. Média  $\pm$  EP (n=7-8)



Fonte: Dados da pesquisa (2025).

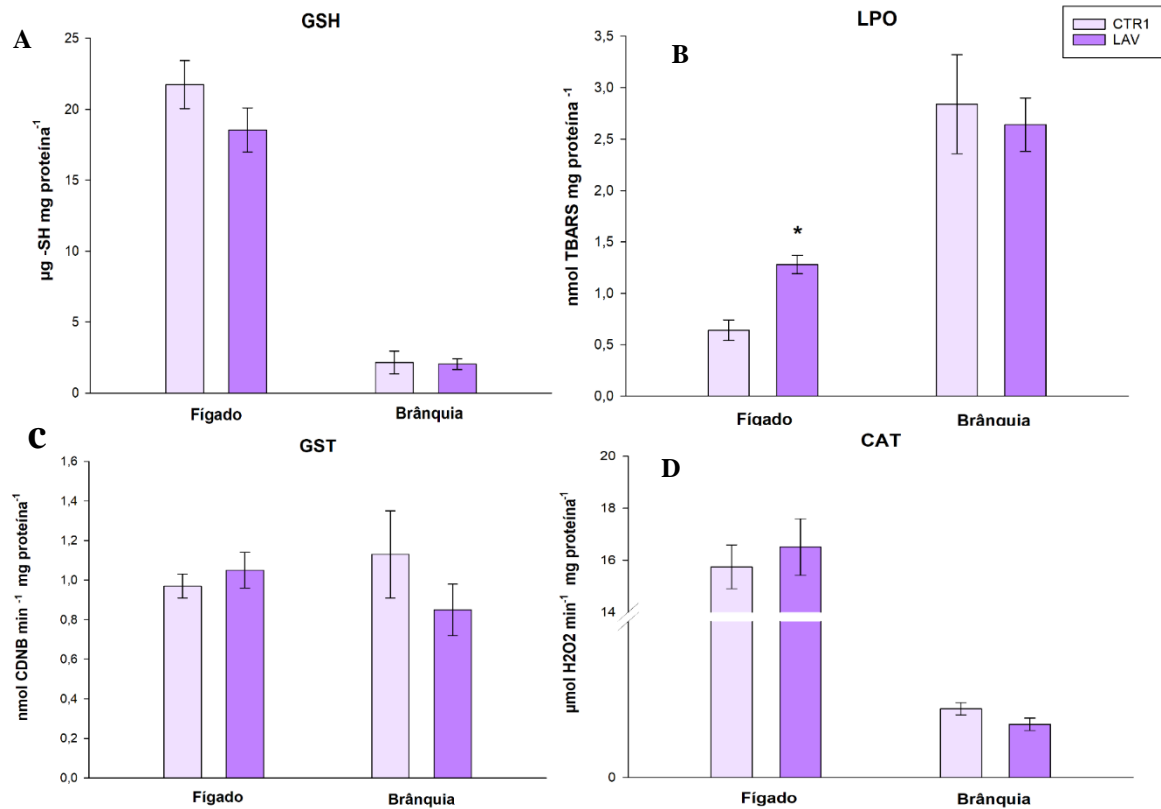
**Figura 3** – Atividade da acetilcolinesterase (AChE) no cérebro e no músculo de *Prochilodus lineatus* expostos à água desclorada (CTR2) e ao óleo essencial de copaíba (COP). A: atividade da AChE no cérebro; B: atividade da AChE no músculo. Média  $\pm$  EP (n=7-8)



Fonte: Dados da pesquisa (2025).

Observou-se um aumento significativo na LPO no fígado dos peixes expostos ao LAV, conforme mostrado na Figura 4. Os demais biomarcadores de estresse oxidativo não apresentaram alterações significativas entre os grupos neste mesmo tecido. Já as brânquias dos animais expostos ao LAV não apresentaram diferença significativa para os parâmetros de estresse oxidativo avaliados, indicando que a exposição ao óleo essencial de lavanda não afetou de forma relevante os mecanismos antioxidantes branquiais, conforme mostrado na Figura 4.

**Figura 4** – Parâmetros de estresse oxidativo avaliados no fígado e nas brânquias de *Prochilodus lineatus* expostos à água desclorada (CTR1) e ao óleo essencial de lavanda (LAV). A: concentração de glutatona reduzida (GSH); B: peroxidação lipídica (LPO); C: atividade da glutatona-S-transferase (GST) e D: atividade da catalase (CAT) Média  $\pm$  EP (n=7-8). O \* indica diferença estatística entre os grupos

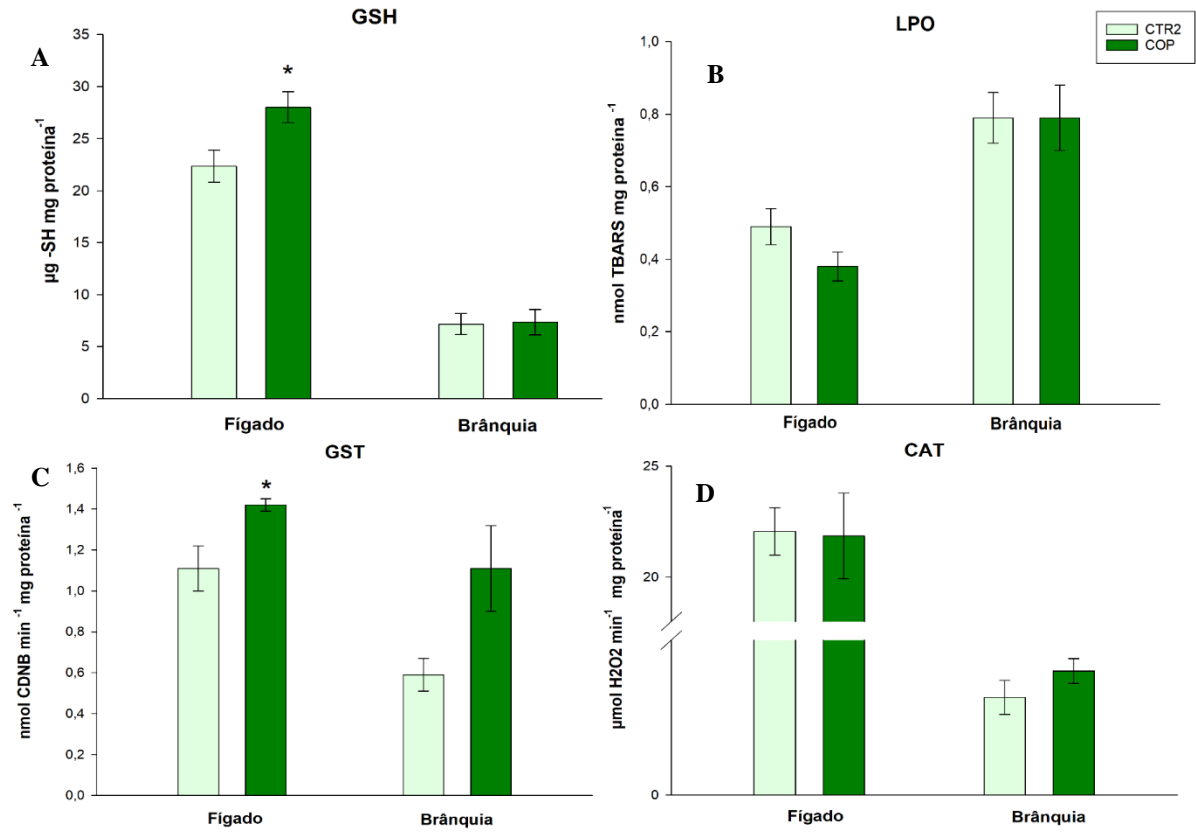


**Fonte:** Dados da pesquisa (2025).

Além disso, os animais expostos à COP apresentaram aumento da concentração de GSH e atividade de GST no fígado (Fig. 5) em relação ao grupo CTR2. Os demais biomarcadores de estresse oxidativo não apresentaram alterações significativas entre os grupos neste mesmo tecido.

Da mesma forma, as brânquias dos animais expostos ao COP não apresentaram alteração significativa dos biomarcadores de estresse oxidativo (Fig. 5) em relação ao grupo CTR2. O que indica que a exposição ao óleo essencial de copaíba não afetou os mecanismos antioxidantes branquiais.

**Figura 5** – Parâmetros de estresse oxidativo avaliados no fígado e nas brânquias de *Prochilodus lineatus* expostos à água desclorada (CTR2) e ao óleo essencial de copaíba (COP). A: concentração de glutathiona reduzida (GSH); B: peroxidação lipídica (LPO); C: atividade da glutathiona-S-transferase (GST) e D: atividade da catalase (CAT). Média  $\pm$  EP (n=7-8). O \* indica diferença estatística entre os grupos



Fonte: Dados da pesquisa (2025).

## 5 DISCUSSÃO

A análise dos biomarcadores nos peixes expostos aos óleos essenciais de lavanda e copaíba indicou algumas alterações significativas em parâmetros antioxidantes e hematológicos, o que sugere a necessidade de cautela em seu uso, mesmo sendo produtos naturais.

Os resultados demonstraram uma diminuição significativa no VCM do grupo exposto ao óleo essencial de copaíba, sugerindo uma instabilidade das células vermelhas (Singh; Pandey, 2021). O VCM é um importante indicador da saúde hematológica dos peixes, refletindo a capacidade de transporte de oxigênio e a resposta a estressores ambientais (Fazio, 2019).

A diminuição do VCM no grupo exposto ao óleo essencial de copaíba pode indicar uma alteração na homeostase celular, mas não há evidências de que essa variação tenha resultado em hemólise. A hemólise ocorre quando há lise das hemácias, liberando o conteúdo intracelular, como o potássio, no plasma (Simonato; Guedes; Martinez, 2008). No entanto, não foi detectado aumento do potássio plasmático, o que sugere que as células vermelhas permaneceram intactas.

Também não houve alteração significativa no RBC, reforçando que não ocorreu perda celular expressiva. Dessa forma, a redução do VCM pode representar apenas uma variação transitória do volume celular, possivelmente associada a um ajuste osmótico ou a uma resposta fisiológica ao composto, sem comprometer a integridade das hemácias ou a capacidade de transporte de oxigênio.

Esse achado difere da literatura que relaciona alterações hematológicas à anemia causada por agentes tóxicos (Witeska, 1998), indicando que, na concentração utilizada, o óleo de copaíba não apresentou toxicidade evidente para os parâmetros analisados. Assim, essa modificação pode estar mais relacionada a uma adaptação celular do que a um efeito negativo, reforçando a necessidade de mais estudos para identificar os mecanismos envolvidos nessa resposta.

De forma semelhante, o Hct é um parâmetro que indica a proporção de células vermelhas no sangue e pode ser afetado por diversos estressores ambientais (Witeska; Dudyk; Jarkiewicz, 2015). Variações nesse índice já foram descritas na literatura em peixes expostos a óleos essenciais, como no estudo de Becker et al. (2012) com bagres prateados expostos ao óleo essencial de *Lippia alba* (300  $\mu\text{l L}^{-1}$ , 10 min), onde reduções nos valores de hematócrito foram atribuídas a processos de

hemodiluição ou ajustes homeostáticos. Dessa forma, essas alterações não indicam necessariamente um efeito prejudicial, mas sim outra possível adaptação fisiológica transitória.

A análise do tecido hepático revelou que o grupo exposto ao óleo essencial de lavanda apresentou um aumento significativo na LPO. Esse achado é interessante, considerando que a lavanda é amplamente reconhecida por suas propriedades antioxidantes (Hui *et al.*, 2010). Estudos anteriores demonstram que o extrato de lavanda é capaz de aumentar a atividade de enzimas antioxidantes e reduzir os níveis de LPO, indicando um efeito protetor contra o estresse oxidativo em peixes (Yousefi *et al.*, 2020).

No entanto, os resultados do presente estudo contrastam com essas observações e sugerem que o óleo essencial de lavanda pode atuar como pró-oxidante em determinadas condições. Em alinhamento com essa hipótese, Salbego *et al.* (2014) descreveram que o quimiotipo linalol – também presente na composição química da lavanda – em concentrações mais altas (30–40  $\mu\text{l L}^{-1}$ ) induziu estresse fisiológico e oxidativo em bagres prateados (*Rhamdia quelen*). Os níveis elevados de LPO no fígado desses peixes transportados em água contendo 30  $\mu\text{l L}^{-1}$  do óleo essencial de *Lippia alba* (quimiotipo linalol) indicaram aumento da LPO, sugerindo que as defesas antioxidantes não foram totalmente eficazes na eliminação das espécies reativas de oxigênio geradas. Portanto, mesmo considerando o uso da lavanda em uma concentração de 20  $\mu\text{l L}^{-1}$  neste estudo, a presença de um efeito pró-oxidante, similar ao observado por Salbego *et al.* (2014), sugere que concentrações aparentemente baixas também podem induzir alterações bioquímicas adversas.

Por outro lado, o aumento significativo na concentração de GSH e na atividade da GST no fígado do grupo exposto ao óleo essencial de copaíba aponta para uma resposta adaptativa ao estresse oxidativo. A GSH desempenha um papel central na manutenção do balanço redox celular e na neutralização de espécies reativas de oxigênio, agindo como a primeira linha de defesa antioxidante (Lushchak, 2016; Nikinmaa, 2014). A elevação da GST complementa essa resposta ao promover a conjugação da GSH com metabólitos eletrofílicos, facilitando a eliminação de radicais livres e compostos potencialmente tóxicos (Monteiro *et al.*, 2006). Esses dados sugerem que a exposição à copaíba desencadeou mecanismos protetores, mas o contexto em que esses efeitos protetores ocorrem ou poderiam levar a desequilíbrios metabólicos deve ser melhor investigado.

Embora não existam estudos específicos sobre o impacto do óleo essencial de copaíba em *P. lineatus*, o aumento da atividade da GST e da concentração de GSH foi observado em mamíferos. Por exemplo, um estudo avaliou o potencial antioxidante do extrato de *Copaifera multijuga* em camundongos portadores de tumor sólido de Ehrlich, mostrando que a administração do extrato na concentração de 200 mg Kg<sup>-1</sup> aumentou significativamente a atividade da GST e a concentração de GSH no fígado (Cunha *et al.*, 2019). Da mesma forma, em um modelo de hipertensão arterial pulmonar induzida por monocrotalina em ratos, o óleo de copaíba aumentou a concentração de GSH no sangue periférico, sugerindo um efeito antioxidante sistêmico (Campos *et al.*, 2021). Esses achados reforçam a capacidade do óleo essencial de copaíba em modular os sistemas antioxidantes, mesmo em diferentes modelos biológicos, destacando seu potencial terapêutico e a relevância de explorar seus mecanismos em organismos aquáticos.

Apesar dos resultados deste estudo, algumas limitações devem ser reconhecidas. Uma delas foi a ausência de um grupo experimental específico para avaliar o efeito do solvente utilizado na diluição dos óleos essenciais (proporção de 1:10 em álcool etílico a 95%). Esse grupo seria fundamental para confirmar os efeitos causados exclusivamente pelos óleos essenciais.

Seria necessário considerar a possibilidade de que o álcool etílico tenha influenciado, de alguma forma, as respostas observadas. A interação entre os óleos essenciais e o solvente utilizado ainda não foi completamente elucidada, e diferentes combinações poderiam ter modulado os efeitos identificados. Por exemplo, enquanto a lavanda possui propriedades analgésicas, a copaíba apresenta efeitos anti-inflamatórios, o que pode ter influenciado as respostas fisiológicas dos organismos testados. No entanto, sem um grupo controle adequado para essa variável, não é possível determinar com precisão o papel do álcool etílico nos resultados obtidos.

Dessa forma, investigações futuras devem considerar o uso de grupos adicionais que permitam uma análise mais detalhada da interação entre os óleos essenciais e seus solventes, garantindo uma interpretação mais específica dos efeitos observados.

## 6 CONCLUSÕES

Este estudo investigou os efeitos dos óleos essenciais de lavanda (*Lavandula angustifolia*) e copaíba (*Copaifera spp.*) em *Prochilodus lineatus*. Os resultados indicaram que, embora esses óleos essenciais possuam propriedades antioxidantes conhecidas, sua exposição em organismos aquáticos pode gerar respostas bioquímicas adversas. Os efeitos observados variaram conforme o composto e o órgão analisado. Num cenário de produções desenfreadas de moléculas sintéticas para os mais diversos usos, estudos recentes têm voltado cada vez mais os olhares para as moléculas naturais. No entanto, é importante ressaltar que as plantas produzem muitas moléculas como mecanismo de defesa contra predadores, por isso são necessários estudos sobre concentrações que assegurem os benefícios apesar de possíveis efeitos adversos.

A exposição ao óleo de lavanda resultou em um aumento significativo na peroxidação lipídica no fígado, evidenciando um possível efeito pró-oxidante que contrasta com a literatura sobre suas propriedades antioxidantes. Por outro lado, o óleo de copaíba levou ao aumento de biomarcadores antioxidantes, como GSH e GST no fígado, indicando uma resposta adaptativa ao estresse oxidativo gerado pelo próprio óleo. Esses achados destacam a complexidade dos efeitos dos óleos essenciais em organismos aquáticos, sugerindo que, embora possam ter propriedades terapêuticas, seu uso em ambientes aquáticos precisa ser avaliado com cautela, principalmente em relação à dose e à especificidade dos efeitos para cada espécie.

Este estudo fornece uma contribuição valiosa ao entendimento dos impactos de substâncias naturais em organismos aquáticos e chama a atenção para a necessidade de um monitoramento cuidadoso de sua utilização em ecossistemas. Futuras pesquisas devem aprofundar o conhecimento sobre os mecanismos subjacentes a esses efeitos, avaliando o papel do solvente utilizado e incluindo uma análise mais abrangente com outras concentrações para confirmar a extrapolação dos resultados observados.

Assim, embora os óleos essenciais de lavanda e copaíba apresentem potencial para aplicações terapêuticas, os efeitos biológicos observados neste estudo ressaltam a necessidade de investigações mais detalhadas. Avaliações futuras são essenciais para compreender melhor sua segurança e impactos, garantindo tanto a viabilidade

de seu uso quanto a preservação da saúde ambiental e dos organismos aquáticos expostos a essas substâncias.

## REFERÊNCIAS

- ABDELLI, W. *et al.* Chemical composition, antimicrobial and anti-inflammatory activity of algerian *Juniperus phoenicea* essential oils. **Natural Product Communications**, [S. l.], v. 13, n. 2, 2018.
- ALDINI, G.; YEUM, K.J.; NIKI, E.; RUSSELL, R.M. **Biomarkers for antioxidant defense and oxidative damage**. [S. l.]: John Wiley & Sons, 2010. 363 p.
- AMIARD-TRIQUET, Claude; AMIARD, Jean-Claude; RAINBOW, Philip S. (ed.). **Ecological biomarkers: indicators of ecotoxicological effects**. Boca Raton, FL, USA: CRC Press, 2012.
- ARMON, R.H.; HÄNNINEM, O. (ed.) **Environmental indicators**. [S. l.]: Springer, 2016. 1068 p.
- ARMSTRONG, D. (ed.) **Oxidative stress biomarkers and antioxidant protocols**. Totowa, New Jersey: Humana Press, 2002. 322 p.
- ARRUDA, C. *et al.* Occurrence, chemical composition, biological activities and analytical methods on *Copaifera* genus-a review. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, [S. l.], v. 109, p. 1–20, 2019.
- ATLI, G.; CANLI, M. Metals ( $\text{Ag}^+$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Cr}^{6+}$ ) affect ATPase activity in the gill, kidney, and muscle of freshwater fish *Oreochromis niloticus* following acute and chronic exposures. **Environmental Toxicology**, [S. l.], v. 28, n. 12, 2013.
- BAKKALI, F. *et al.* Biological effects of essential oils – a review. **Food and Chemical Toxicology**, [S. l.], v. 46, n. 2, p. 446–475, 2008.
- BALDISSERA, M. D. *et al.* *Melaleuca alternifolia* essential oil prevents oxidative stress and ameliorates the antioxidant system in the liver of silver catfish (*Rhamdia quelen*) naturally infected with *Ichthyophthirius multifiliis*. **Aquaculture**, [S. l.], v. 480, 2017.
- BALDISSERA, M. D.; SOUZA, C. F.; BALDISSEROTTO, B. *Melaleuca alternifolia* essential oil prevents bioenergetics dysfunction in spleen of silver catfish naturally infected with *Ichthyophthirius multifiliis*. **Microbial Pathogenesis**, [S. l.], v. 123, 2018.
- BARRIOS, C. E. *et al.* Localization and distribution of CCK-8, NPY, Leu-ENK-, and Ghrelin- in the digestive tract of *Prochilodus lineatus* (Valenciennes, 1836). **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, [S. l.], v. 92, n. 2, 2020.
- 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**, [S. l.], v. 38, n. 3, 2012.
- BEUTLER, E. Glutathione in Red Cell Metabolism: A manual of Biochemical methods. **New York**, [S. l.], p. 62–94, 1975.
- BEUTLER, E.; DURON, O.; KELLY, B. M. Improved method for the determination of blood glutathione. **The Journal of laboratory and clinical medicine**, [S. l.], v. 61,

1963.

BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein–dye binding. **Analytical Biochemistry**, [S. l.], v. 72, n. 1-2, p. 248–254, 1976b.

BRASIL. Conselho Federal de Medicina Veterinária. **Resolução Nº 714, de 20 de junho de 2002**. Dispõe sobre procedimentos e métodos de eutanásia em animais, e dá outras providências. Brasília: CFMV, 2002.

CAJARAVILLE, M. P., BEBIANNO, M. J., BLASCO, J., PORTE, C., SARASQUETE, C., VIARENGO, A. The use of biomarkers to assess the impact of pollution in coastal environments of the Iberian Peninsula: a practical approach. **Science of the Total Environment**, [S. l.], v. 247, p. 295–311. 2000.

CAMEJO, G. *et al.* Association of apo B lipoproteins with arterial proteoglycans: Pathological significance and molecular basis. **Atherosclerosis**, [S. l.], v. 139, n. 2, 1998.

CAMPOS, C. *et al.* Efeitos do Óleo de Copaíba em Marcadores Periféricos de Estresse Oxidativo em um Modelo de *Cor Pulmonale* em Ratos. **Arquivos brasileiros de cardiologia**, [S. l.], v. 117, n. 6, 2021.

CAN, E.; SÜMER, E. Anesthetic and sedative efficacy of peppermint (*Mentha piperita*) and lavender (*Lavandula angustifolia*) essential oils in blue dolphin cichlid (*Cyrtocara moorii*). **Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences**, [S. l.], v. 43, n. 3, p. 334–341, 2019.

CARDIA, G. F. E. *et al.* Effect of Lavender (*Lavandula angustifolia*) Essential Oil on Acute Inflammatory Response. **Evidence-based Complementary and Alternative Medicine**, [S. l.], v. 2018, 2018.

CAZENAVE, J.; AMÉ, M. V.; MENONE, M. L. Biomarcadores de Contaminación. *In*: CARRIQUIRIBORDE, P. **Principios de Ecotoxicología**. La Plata: EDULP, 2021. p. 291–308.

CHEN, X. *et al.* Antioxidant Activities of Essential Oils and Their Major Components in Scavenging Free Radicals, Inhibiting Lipid Oxidation and Reducing Cellular Oxidative Stress. **Molecules**, [S. l.], v. 28, n. 11, 2023.

CHOVANEC, A.; HOFER, R.; SCHIEMER, F. Chapter 18 Fish as bioindicators. **Trace Metals and other Contaminants in the Environment**, [S. l.], v. 6, n. C, 2003.

COLOMBO, J. C. *et al.* Bioaccumulation of anthropogenic contaminants by detritivorous fish in the Río de la Plata estuary: 2-Polychlorinated biphenyls. **Chemosphere**, [S. l.], v. 69, n. 8, 2007.

COSTA, J.R.M.A., *et al.* Enzymatic inhibition and morphological changes in *Hoplias malabaricus* from dietary exposure to lead (II) or methylmercury. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, [S. l.], v. 67, n. 1, p. 82–88, 2007.

CUNHA, A. P. S. *et al.* Evaluation of the antioxidant potential of *copaifera multijuga* in

ehrllich tumor-bearing mice. **Acta Amazonica**, [S. l.], v. 49, n. 1, 2019.

CUNHA, M. A. *et al.* Essential oil of *Lippia alba*: A new anesthetic for silver catfish, *Rhamdia quelen*. **Aquaculture**, [S. l.], v. 306, n. 1–4, 2010.

DE LAFONTAINE, Y. *et al.* Biomarkers in zebra mussels (*Dreissena polymorpha*) for the assessment and monitoring of water quality of the St Lawrence River (Canada). **Aquatic Toxicology**, [S. l.], v. 50, n. 1–2, 2000.

DINIZ, L. *et al.* Bioactive natural compounds and antioxidant activity of essential oils from spice plants: New findings and potential applications. **Biomolecules**, [S. l.], v. 10, n. 7, p. 988, 2020.

ELLMAN, G. L. *et al.* A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. **Biochemical Pharmacology**, [S. l.], v. 7, n. 2, 1961.

EVANS, D. H.; PIERMARINI, P. M.; CHOE, K. P. The multifunctional fish gill: Dominant site of gas exchange, osmoregulation, acid-base regulation, and excretion of nitrogenous waste. **Physiological Reviews**, [S. l.], 2005.

FAZIO, A. *et al.* Efeitos in vitro de extratos de folhas de *Lavandula multifida* L. italiana em leucócitos de dourada (*Sparus aurata*) e células SAF-1. **Fish & shellfish immunology**, [S. l.], v. 66, p. 334–344, 2017.

FAZIO, F. Fish hematology analysis as an important tool of aquaculture: A review. **Aquaculture**, [S. l.], v. 500, p. 237–242, 2019.

FERRAZ, C. A. *et al.* Ecotoxicity of plant extracts and essential oils: A review. **Environmental Pollution**, [S. l.], v. 292, p. 118319, 2022.

FRANZ, C.; BASER, K. H. C.; WINDISCH, W. Essential oils and aromatic plants in animal feeding - a European perspective. **A review. Flavour and Fragrance Journal**, [S. l.], v. 25, n. 5, p. 327–340, 2010.

FRAZÃO, D. R. *et al.* Chapter 8 - Biological activities of *Copaifera* spp. ATTA-UR-RAHMAN (ed.). **Studies in Natural Products Chemistry**. [S. l.], v. 81, p. 315–338, 2024.

FREITAS-SOUZA, C. *et al.* Citral and linalool chemotypes of *Lippia alba* essential oil as anesthetics for fish: a detailed physiological analysis of side effects during anesthetic recovery in silver catfish (*Rhamdia quelen*). **Fish Physiology and Biochemistry**, [S. l.], v. 44, n. 1, 2018.

FREITAS-SOUZA, C. *et al.* **Essential oils as stress-reducing agents for fish aquaculture: A review**. *Frontiers in Physiology*, [S. l.], v. 10, p. 785, 2019.

GAGNÉ, F. **Biochemical ecotoxicology: principles and methods**. [S. l.]: Elsevier, 2014.

HARTER, T. S.; BRAUNER, C. J. The O<sub>2</sub> and CO<sub>2</sub> Transport System in Teleosts and the Specialized Mechanisms That Enhance Hb–O<sub>2</sub> Unloading to Tissues. *In: Fish Physiology*. [S. l. s. n.], v. 36, p. 1–106, 2017.

- HUANG, L.; YAGURA, T.; CHEN, S. Sedative activity of hexane extract of *Keampferia galanga* L. and its active compounds. **Journal of ethnopharmacology**, [S. l.], v. 120, n. 1, p. 123–125, 2008.
- HUI, L. *et al.* Chemical composition of lavender essential oil and its antioxidant activity and inhibition against rhinitis- related bacteria. **African Journal of Microbiology Research**, [S. l.], v. 4, n. 4, 2010.
- HWANG, P. P. Osmotic, ionic and nitrogenous-waste balance: mechanisms of ion transport in freshwater fishes. **Encyclopedia of Fish Physiology: From Genome to Environment**. v. 1–3. [S. l.: s. n.], 2011.
- HYLDGAARD, M.; MYGIND, T.; MEYER, R. L. Essential oils in food preservation: Mode of action, synergies, and interactions with food matrix components. **Frontiers in Microbiology**, [S. l.], v. 3, n. Jan, 2012.
- JUGREET, B. S. *et al.* Chemistry, bioactivities, mode of action and industrial applications of essential oils. **Trends in Food Science and Technology**, [S. l.], v. 101, p. 89–105, 2020.
- LACERDA, L. D.; MALM, O. Contaminação por mercúrio em ecossistemas aquáticos: Uma análise das áreas críticas. **Estudos Avançados**, [S. l.], v. 22, n. 63, 2008.
- LEITE, L. A. R. *et al.* A new species of tereancistrum (Monogenea: *Dactylogyridae*), parasite of *prochilodus lineatus* (characiformes: *Prochilodontidae*) from southeast Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, [S. l.], v. 29, n. 2, 2020.
- LEMONS, M. *et al.* *Copaifera langsdorffii*: Evaluation of potential gastroprotective of extract and isolated compounds obtained from leaves. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, [S. l.], v. 25, n. 3, 2015.
- LUNARDELLI, B. *et al.* Chromium accumulation and biomarker responses in the Neotropical fish *Prochilodus lineatus* caged in a river under the influence of tannery activities. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, [S. l.], v. 153, 2018.
- LUSHCHAK, V. I. Contaminant-induced oxidative stress in fish: a mechanistic approach. **Fish Physiology and Biochemistry**, [S. l.], v. 42, p. 711–747, 2016.
- MAIA, A. I. V. *et al.* Óleos essenciais das folhas de *Vernonia remotiflora* e *Vernonia brasiliensis*: composição química e atividade biológica. **Química Nova**, [S. l.], v. 33, p. 584-586, 2010.
- MANAYI, A. *et al.* Natural terpenoids as a promising source for modulation of GABAergic system and treatment of neurological diseases. **Pharmacological Reports**, [S. l.], v. 68, p. 671–679, 2016.
- METIN, S. *et al.* Efficacy of cumin (*Cuminum cyminum*) and lavender (*Lavandula angustifolia*) essential oils as anaesthetics in common carp (*Cyprinus carpio* L.1758). **Aquaculture Research**, [S. l.], v. 53, n. 10, 2022.
- MONTEIRO, D. A. *et al.* Oxidative stress biomarkers in the freshwater characid fish,

*Brycon cephalus*, exposed to organophosphorus insecticide Folisuper 600 (*methyl parathion*). **Comparative Biochemistry and Physiology – C: toxicology and pharmacology**, [S. I.], v. 143, n. 2, 2006.

NIKINMAA, Mikko. **Uma introdução à toxicologia aquática**. [S. I.], Elsevier, 2014.

OLIVEIRA-HASHIMOTO, G. S. *et al.* Essential oils of *Lippia sidoides* and *Mentha piperita* against monogenean parasites and their influence on the hematology of Nile tilapia. **Aquaculture**, [S. I.], v. 450, 2016.

PAIVA, Luiz AF *et al.* Gastroprotective effect of *Copaifera langsdorffii* oleo-resin on experimental gastric ulcer models in rats. **Journal of ethnopharmacology**, [S. I.], v. 62, n. 1, p. 73–78, 1998.

PEREIRA, L.; FERNANDES, M. N.; MARTINEZ, C. B. R. Hematological and biochemical alterations in the fish *Prochilodus lineatus* caused by the herbicide clomazone. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, [S. I.], v. 36, n. 1, 2013.

PINTO, E. P. *et al.* Poly- $\epsilon$ -caprolactone nanocapsules loaded with copaiba essential oil reduce inflammation and pain in mice. **International Journal of Pharmaceutics**, [S. I.], v. 642, 2023.

RIBEIRO, V. P. *et al.* Brazilian medicinal plants with corroborated anti-inflammatory activities: a review. **Pharmaceutical Biology**, [S. I.], v. 56, n. 1, 2018.

ROOHINEJAD, S.; KOUBAA, M.; BARBA, F. J. Extraction Methods of Essential Oils From Herbs and Spices. *In: Essential Oils in Food Processing*. Chichester, UK: John Wiley & Sons, 2017. p. 21–55.

SALBEGO, J. *et al.* The essential oil from *Lippia alba* induces biochemical stress in the silver catfish (*Rhamdia quelen*) after transportation. **Neotropical Ichthyology**, [S. I.], v. 12, n. 4, 2014.

SCHRECK, C.B., TORT, L., FARRELL, A.P., BRAUNER, C.J. (Eds). Fish Physiology, **Biology of Stress in Fish**. Academic Press, [S. I.], v. 35, 590 p., 2016.

SEIXAS, A. T. *et al.* *Copaifera* oleoresins as a novel natural product against acanthocephalan in aquaculture: Insights in the mode of action and toxicity. **Aquaculture Research**, [S. I.], v. 51, n. 11, 2020.

SIMONATO, J. D.; GUEDES, C. L. B.; MARTINEZ, C. B. R. Biochemical, physiological, and histological changes in the neotropical fish *Prochilodus lineatus* exposed to diesel oil. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, [S. I.], v. 69, n. 1, 2008.

SINGH, U.; PANDEY, R. S. Fertilizer industry effluent induced hematological, histopathological and biochemical alterations in a stinging catfish, *Heteropneustes fossilis* (Bloch, 1794). **Environmental and Sustainability Indicators**, [S. I.], v. 10, 2021.

TAVARES, C. S. *et al.* Bioproducts from forest biomass: Essential oils and hydrolates

from wastes of *Cupressus lusitanica* Mill. and *Cistus ladanifer* L. **Industrial Crops and Products**, [S. I.], v. 144, 2020.

TUREK, C.; STINTZING, F. C. Stability of essential oils: a review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, [S. I.], v. 12, n. 1, p. 40–53, 2013.

URASAKI, Y. *et al.* Fast-acting and receptor-mediated regulation of neuronal signaling pathways by copaiba essential oil. **International Journal of Molecular Sciences**, [S. I.], v. 21, n. 7, 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**, [S. I.], v. 13, n. 2, p. 57–149, 2003.

VEIGA JUNIOR, V. F.; PINTO, A. C. O gênero *copaifera* L. **Química Nova**, [S. I.], v. 25, n. 2, 2002.

VEIGA, V. F. *et al.* Chemical composition and anti-inflammatory activity of copaiba oils from *Copaifera cearensis* Huber ex Ducke, *Copaifera reticulata* Ducke and *Copaifera multijuga* Hayne-A comparative study. **Journal of Ethnopharmacology**, [S. I.], v. 112, n. 2, 2007.

VIEIRA, C. E. D. *et al.* DNA damage and oxidative stress induced by imidacloprid exposure in different tissues of the Neotropical fish *Prochilodus lineatus*. **Chemosphere**, [S. I.], v. 195, 2018.

WENDELAAR BONGA, S. E. Hormone Response to Stress. *In*: Farrell, A.P. (Ed), **Encyclopedia of Fish Physiology: From Genome to Environment**, v. 2, Gas Exchange, Internal Homeostasis, and Food Uptake. [S. I.]: Academic Press, 2011. pp. 1515–1523.

WITESKA, M. Anemia in teleost fishes: bulletin of the European Association of Fish Pathologists, **Bull Eur Assoc Fish Pathol**, [S. I.], v. 35, n. 4, 2015.

WITESKA, M. Changes in selected blood indices of common carp after acute exposure to cadmium. **Acta Veterinaria Brno**, [S. I.], v. 67, n. 4, 1998.

WITESKA, M.; DUDYK, J.; JARKIEWICZ, N. Haematological effects of 2-phenoxyethanol and etomidate in carp (*Cyprinus carpio* L.). **Veterinary Anaesthesia and Analgesia**, [S. I.], v. 42, n. 5, 2015.

YIGIT, N. O. *et al.* Effect of lavender (*Lavandula angustifolia*) and laurel (*Laurus nobilis*) essential oils as anesthetics in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, [S. I.], v. 557, 2022.

YOUSEFI, M. *et al.* Effects of lavender (*Lavandula angustifolia*) extract inclusion in diet on growth performance, innate immunity, immune-related gene expression, and stress response of common carp, *Cyprinus carpio*. **Aquaculture**, [S. I.], v. 515, 2020.

ZAHL, I. H.; SAMUELSEN, O.; KIESSLING, A. Anaesthesia of farmed fish: Implications for welfare. **Fish physiology and biochemistry**, [S. I.], v. 38, p. 201–218, 2012.

ZHANG, W. J. *et al.* Two new coumarins from *Zanthoxylum dimorphophyllum spinifolium* and their feeding deterrent activities against *Tribolium castaneum*. **Industrial Crops and Products**, [S. l.], v. 143, 2020.