

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMACOLOGIA**

**TRIAGEM DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE PLANTAS NATIVAS  
PARA O DESENVOLVIMENTO DE NOVOS SEDATIVOS E  
ANESTÉSICOS PARA PEIXES**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

**Carlos Herminio Magalhães Fortes**

**Santa Maria, RS, Brasil  
2022**

**Carlos Herminio Magalhães Fortes**

**TRIAGEM DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE PLANTAS NATIVAS  
PARA O DESENVOLVIMENTO DE NOVOS SEDATIVOS E  
ANESTÉSICOS PARA PEIXES**

Dissertação apresentada ao curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, área de concentração Farmacologia Aplicada à produção animal, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Farmacologia**.

**Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Berta Maria Heinzmann**  
**Coorientador: Prof. Dr. Bernardo Baldisserotto**

**Santa Maria, RS**  
**2022**

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001

This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) – Finance Code 001

Fortes, Carlos Herminio Magalhães  
TRIAGEM DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE PLANTAS NATIVAS PARA O  
DESENVOLVIMENTO DE NOVOS SEDATIVOS E ANESTÉSICOS PARA  
PEIXES / Carlos Herminio Magalhães Fortes.- 2022.  
103 p.; 30 cm

Orientadora: Berta Maria Heinzmann  
Coorientador: Bernardo Baldisserotto  
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa  
Maria, Centro de Ciências da Saúde, Programa de Pós  
Graduação em Farmacologia, RS, 2022

1. Sistema Nervoso Central 2. Bem-Estar Animal 3.  
Anestesiologia 4. Substâncias ativas 5. Piscicultura. I.  
Heinzmann, Berta Maria II. Baldisserotto, Bernardo III.  
Título.

Sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFSM. Dados fornecidos pelo autor(a). Sob supervisão da Direção da Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central. Bibliotecária responsável Paula Schoenfeldt Patta CRB 10/1728.

Declaro, CARLOS HERMINIO MAGALHÃES FORTES, para os devidos fins e sob as penas da lei, que a pesquisa constante neste trabalho de conclusão de curso (Dissertação) foi por mim elaborada e que as informações necessárias objeto de consulta em literatura e outras fontes estão devidamente referenciadas. Declaro, ainda, que este trabalho ou parte dele não foi apresentado anteriormente para obtenção de qualquer outro grau acadêmico, estando ciente de que a inveracidade da presente declaração poderá resultar na anulação da titulação pela Universidade, entre outras consequências legais.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMACOLOGIA

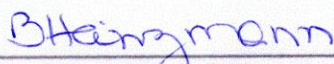
A Comissão Examinadora, abaixo assinada, aprova a  
**Dissertação de Mestrado**

**TRIAGEM DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE PLANTAS NATIVAS PARA O  
DESENVOLVIMENTO DE NOVOS SEDATIVOS E ANESTÉSICOS PARA  
PEIXES**

elaborado por  
**Carlos Herminio Magalhães Fortes**


como requisito parcial para obtenção do grau de  
**Mestre em Farmacologia**

**COMISSÃO EXAMINADORA:**



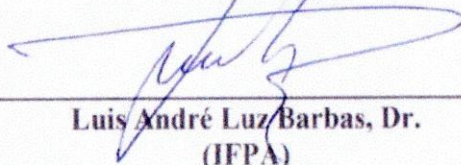
---

**Berta Maria Heinzmann, Dra.**  
(Presidente/Orientadora - UFSM)



---

**Leonardo José Gil Barcellos, Dr.**  
(UPF/UFSM)



---

**Luis André Luz Barbas, Dr.**  
(IFPA)

Santa Maria, 18 de fevereiro de 2022.

## **DEDICATÓRIA**

Aos meus pais José Claudio Fortes (*in memoriam*) e Sonia Maria Magalhães Fortes, a minha filha Maria Alice Rech Fortes e a minha mulher Luísa, aos animais, aos meus professores e amigos.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço ao meu pai José Cláudio Fortes (*in memorian*) por ter sonhado ser pai, por cultivar a terra, amar, criar e cuidar dos animais e junto a minha mãe Sonia Maria Magalhães Fortes realizarem o maior sonho que sonharam e planejaram juntos: ter um filho. Acredito que os melhores anos da sua vida foram ao meu lado, ao lado da família que construiu, com certeza hoje estaria orgulhoso dessa conquista. Após a partida de um pai, vários vazios se fazem presentes, mas sem dúvidas essa dor da perda, foi amenizada com o amor e carinho da minha família Magalhães e Fortes. Nesse contexto, entram meus amados avós, meu avô materno Carlos Magalhães (*in memorian*), o qual sempre dedicou à vida a família, foi exemplo de ser humano e nos ensinou a importância da união familiar.

Agradeço também a minha avó materna Estautelina Magalhães, a qual sempre me transmitiu amor com seu coração puro, empático e me apresentou a importância de sermos politizados e informados sobre a realidade do país e do mundo. Aos meus avós paternos Hermínio Fortes (*in memorian*) e Wilma Fortes, a qual sempre pensa e faz o melhor pelos filhos e netos, és um exemplo de mãe e foi também exemplo de professora, por isso, agradeço por tê-los como avós, pois sem vocês não estaria aqui. Ao meu porto seguro, meu exemplo maior de amor, garra, carinho, perseverança e de tantas outras qualidades, as quais se forem citadas aqui, irá faltar espaço. Então, dedico todas as minhas conquistas a ti mãe Sonia, pois sei que a minha felicidade é a tua também.

Agradeço por sempre me auxiliar a buscar e realizar os nossos sonhos. Obrigado por tudo mãe Sonia, amo-te. Agradeço a minha mulher por todo o apoio e compreensão em vários momentos onde precisei focar nos estudos e projetos profissionais, com certeza, isso me fez ter mais força para buscar nossos objetivos. Dessa forma, espero termos muitos momentos de alegria, amor e união.

Agradeço aos meus professores do ensino fundamental, médio e superior por sempre transmitirem conhecimento para que eu pudesse chegar até esse memorável momento, com certeza alguns professores marcaram e transformam para sempre a minha realidade. Por isso, hoje agradeço aqui esses grandes profissionais que sempre me oportunizaram conhecimento de qualidade, com certeza, alguns marcam mais que outros, porém todos de alguma forma marcaram a minha vida e o meu saber.

Agradeço ao acolhimento, carinho e oportunidades que a Universidade Federal de Santa Maria (UFSM) me ofereceu, pois com certeza nesses anos foi minha segunda “casa”, pois aqui fiz amigos para uma vida inteira. Enfim, obrigado a todos os que fazem a UFSM, os quais me trataram com carinho e palavras de aconchego em momentos difíceis. Principalmente, pelo fato de termos enfrentado uma pandemia (COVID19), onde os sorrisos e abraços, não podiam ser visualizados e realizados, pois tínhamos máscaras e distanciamento social. Porém, em nenhum momento ficamos desamparados de afeto e amizade, pois toda a comunidade acadêmica foi acolhimento.

Agradeço a minha orientadora de mestrado Doutora Berta Maria Heinzmann por todos os conhecimentos, carinho, generosidade, amizade, compreensão, pelas oportunidades, sorrisos e pela vivência prática e teórica oferecidas no Laboratório de Extrativos Vegetais da UFSM. Agradeço ao meu co-orientador Doutor Bernardo Baldisserotto por ter dedicado conhecimento, tempo para sanar as dúvidas, principalmente por agir de forma generosa e transmitir tranquilidade, com certeza me proporcionou muitos momentos de aprendizado e infinitas oportunidades no Laboratório de Fisiologia de Peixes da UFSM. Dessa forma, professora Berta e professor Bernardo foram para mim “uma mãe e um pai científico”, os quais me despertaram ainda mais para área científica e docente. Portanto, minha eterna gratidão e respeito por esses grandes cientistas e professores que estão ao meu lado.

Agradeço também ao Programa de Pós-Graduação em Farmacologia da UFSM, a nossa secretária e minha amiga Zeli e a todos os demais professores e colegas do programa, onde desde o primeiro dia me fizeram sentir se em um lugar harmonioso, de muito trabalho e de muito conhecimento na área da Farmacologia, Fisiologia, dos Produtos Naturais e das infinitas oportunidades que a multidisciplinariedade possibilita. Isso me fez crescer muito como profissional, principalmente entender a importância da ciência básica e também de aprofundarmos ainda mais os conhecimentos. Isso para oferecermos o melhor aos nossos pacientes, pois quando se trabalha com vidas, é extremamente importante.

Agradeço profundamente as políticas públicas de acesso a Educação no Brasil, pois me oportunizou a realização da minha graduação. Isso porque consegui uma excelente nota no Exame Nacional de Ensino Médio (ENEM). Essa me possibilitou uma bolsa de 100% no Programa Universidade Para Todos (PROUNI). Dessa forma, não poderia estar a realizar o mestrado se não tivesse essa oportunidade que transformou a

minha realidade e meu futuro profissional. Enfim, agradeço ao Ministério da Educação (MEC) e a todos os que colaboraram para que isso fosse possível.

Além disso, agradeço o apoio da Coordenação de aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, Brasil (CAPES), código de financiamento 001, a qual me possibilitou uma bolsa para realização dos meus estudos na pós-graduação stricto sensu em nível de mestrado.

Enfim, agradeço a mãe natureza por me oferecer as melhores energias, aos animais que passam pela minha vida e me ensinam o significado do amor. Ao meu Deus por iluminar meu caminho, mostrando-me sempre o melhor trajeto. Agradeço a todos que caminharam ao meu lado nessa jornada, pois o ser humano sempre tem algo a ensinar e algo a aprender.

**Muito Obrigado!**



*“Feliz aquele que transfere o que sabe e aprende o que ensina.”*  
Cora Carolina

## RESUMO

Dissertação de Mestrado  
Programa de Pós-Graduação em Farmacologia  
Universidade Federal de Santa Maria, RS, Brasil.

### **TRIAGEM DE ÓLEOS ESSENCIAIS DE PLANTAS NATIVAS PARA O DESENVOLVIMENTO DE NOVOS SEDATIVOS E ANESTÉSICOS PARA PEIXES**

AUTOR: Carlos Herminio Magalhães Fortes  
ORIENTADORA: Berta Maria Heinzmann  
DATA E LOCAL DE DEFESA: 18 de fevereiro de 2022, Santa Maria.

Os óleos essenciais e seus constituintes majoritários hoje já são utilizados em animais, principalmente em pesquisa, para o desenvolvimento de novos fármacos para uso veterinário. Ademais, são comprovadas as ações sedativas e anestésicas de vários óleos nos mais variados procedimentos realizados na produção animal. No entanto, há a necessidade de mais estudos para que suas propriedades sedativas e anestésicas sejam caracterizadas em peixes. Entre os desafios encontrados na piscicultura, um deles que merece destaque é o estresse causado ao manejar para uma biometria, transporte, procedimento cirúrgico, entre outros. Isso afeta o bem estar animal e causa prejuízos econômicos à produção. Então, os agentes naturais são uma possibilidade para minimizar o estresse por meio da anestesia, pois causam mínimos impactos ao meio ambiente e alguns possuem um bom efeito depressor central nos peixes, sem provocar efeitos adversos importantes. Dessa forma, foi verificada a composição química dos óleos essenciais através de cromatografia gasosa. Além disso, foram realizados experimentos de indução e recuperação anestésica, também de longa exposição a diferentes óleos essenciais utilizando juvenis de jundiá (*Rhamdia quelen*) para determinar as concentrações eficazes à indução e recuperação da anestesia, bem como observação de possíveis efeitos adversos e mortalidade. Os resultados indicaram que os óleos essenciais adequados para a sedação são os de folhas de *Pilocarpus pennatifolius*, *Cordia verbenacea*, *Casearia sylvestris*, *Prunus myrtifolia*, *Acmella oleracea* e *Aloysia hatschbachii*; além destes, os óleos de inflorescências de *Prunus myrtifolia* e *Acmella oleracea* também são adequados à sedação. Já para a anestesia são indicados os óleos essenciais de folhas de *Prunus myrtifolia*, *Aloysia hatschbachii*, *Acmella oleracea*, bem como flores de *A. oleracea*.

**Palavras-chave:** Sistema Nervoso Central. Bem-Estar Animal. Anestesiologia. Substâncias ativas. Piscicultura. Jundiá.

## ABSTRACT

Master Dissertation  
Graduate Program in Pharmacology  
Federal University of Santa Maria, RS, Brazil.

# SCREENING OF ESSENTIAL OILS FROM NATIVE PLANTS FOR THE DEVELOPMENT OF NEW SEDATIVES AND ANESTHETICS FOR FISH

AUTHOR: Carlos Herminio Magalhães Fortes  
ADVISOR: Berta Maria Heinzmann  
DATE AND PLACE OF DEFENSE: February 18, 2022, Santa Maria.

Essential oils and their major constituents are now used in animals, mainly for the development of new drugs for veterinary use. Furthermore, the sedative and anesthetic actions of various oils are proven in the most varied procedures performed in animal production. However, there is a need for further studies aiming to characterize their sedative and anesthetic properties in fish. Among the challenges found in fish farming, one of them that deserves to be highlighted is the stress caused when handling biometrics, transport, surgical procedures, among others. This affects animal welfare and causes economic losses to production. So, natural agents are a possibility to minimize stress through anesthesia, as they cause minimal impacts to the environment and some have a good central depressant effect on fish, without causing major adverse effects. Thus, the chemical composition of essential oils was verified by gas chromatography. Furthermore, anesthetic induction and recovery experiments were carried out, also with long exposure to different essential oils, using jundiá juveniles (*Rhamdia quelen*) to determine effective concentrations for induction and recovery from anesthesia, as well as observation of possible adverse effects and mortality. The results indicated that the essential oils suitable for sedation are those from leaves of *Pilocarpus pennatifolius*, *Cordia verbenacea*, *Casearia sylvestris*, *Prunus myrtifolia*, *Acmella oleracea* and *Aloysia hatschbachii*; in addition to these, the oils from the inflorescences of *Prunus myrtifolia* and *Acmella oleracea* are also suitable for sedation. For anesthesia, essential oils from leaves of *Prunus myrtifolia*, *Aloysia hatschbachii*, *Acmella oleracea*, as well as *A. oleracea* flowers are indicated.

**Palavras-chave:** Central Nervous System. Animal welfare. Anesthesiology. Active substances. Pisciculture. Jundiá.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1.** Exsicata das folhas e inflorescências (A) e inflorescência e folhas (B) de *Acmella oleracea*.....28
- Figura 2.** Exsicata das folhas (A) com duas glândulas maculares na base da folha e flores (B) de *Prunus myrtifolia*.....30
- Figura 3.** Exsicata (A) e folhas frescas (B) de *Casearia sylvestris*.....33

### MANUSCRITO

- Figure 1.** Stages of anesthesia observed over time in silver catfish (*Rhamdia quelen*) exposed to essential oil from inflorescences (a) and leaves (b) of *Acmella oleracea*, leaves (c) of *Aloysia hatschbachii*, inflorescences (d) and leaves (e) of *Prunus myrtifolia*, leaves (f) of *Pilocarpus pennatifolius*, fresh leaves (g) and dried leaves (h) of *Casearia sylvestris* and leaves (i) of *Cordia verbenacea*. N - Normal behavior, S2 - sedation, S3a - partial loss of balance, S3b - total loss of balance, S4 - anesthesia and S5 - bulbar collapse. (n=8).....80
- Figure 2.** Graphic representation for the studied concentrations of AOOi (a), AOOI (b), AHOI (c), PMOi (d), PMOI (e), PPOI (f), CSOI1 (g), CSOI2 (h) and CVOI (i). The graphs were constructed from the equation described in item 2.6. Thus, the following results presented in the graph were obtained. The concentrations are represented in log form, being 20 mg L<sup>-1</sup> (log = 1.3); 30 mg L<sup>-1</sup> (log = 1.47); 50 mg L<sup>-1</sup> (log = 1.69); 80 mg L<sup>-1</sup> (log = 1.9); 100 mg L<sup>-1</sup> (log = 2.00); 200 mg L<sup>-1</sup> (log = 2.3); 300 mg L<sup>-1</sup> (log= 2.47) and 400 mg L<sup>-1</sup> (log= 2.6).....81

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b>	Estágios de indução anestésica para determinação da depressão progressiva do Sistema Nervoso Central (SNC) em peixes.....	26
------------------	---	----

### MANUSCRITO

<b>Table 1</b>	Native plant species used to obtain essential oils.....	71
<b>Table 2</b>	Concentrations used in long-term exposure protocols.....	72
<b>Table 3</b>	Chemical composition of the essential oils of <i>Acmella oleracea</i> , <i>Prunus myrtifolia</i> , <i>Aloysia hastschbachii</i> , <i>Pilocarpus pennatifolius</i> , <i>Casearia sylvestris</i> and <i>Cordia verbenacea</i> .....	73
<b>Table 4</b>	Anesthetic induction and recovery times (s) in juveniles of <i>Rhamdia quelen</i> exposed to essential oils of <i>Acmella oleracea</i> inflorescences (AOOi) and leaves (AOOl), <i>Aloysia hatschbachii</i> leaves (AHOl), <i>Prunus myrtifolia</i> inflorescences (PMOi) and leaves (PMOl), <i>Pilocarpus pennatifolius</i> leaves (PPOl), of <i>Casearia sylvestris</i> fresh leaves (CSOl <sub>1</sub> ) and dried leaves (CSOl <sub>2</sub> ) and <i>Cordia verbenacea</i> leaves (CVOl).....	76

## LISTA DE ABREVIATURAS

OEs	Óleos essenciais
BEA	Bem estar animal
FDA	Food and Drug Administration
MS-222	Metanossulfonato de triclaína
SNC	Sistema Nervoso Central

## MANUSCRITO

AOO1	Óleo essencial da folha de <i>Acmella oleracea</i>
AOOi	Óleo essencial da inflorescência de <i>Acmella oleracea</i>
AHO1	Óleo essencial da folha de <i>Aloysia hastchbachii</i>
PMO1	Óleo essencial da folha de <i>Prunus myrtifolia</i>
PMOi	Óleo essencial da inflorescência de <i>Prunus myrtifolia</i>
PPO1	Óleo essencial da folha de <i>Pilocarpus pennatifolius</i>
CSO1 <sub>1</sub>	Óleo essencial da folha de <i>Casearia sylvestris</i>
CSO1 <sub>2</sub>	Óleo essencial da folha seca de <i>Casearia sylvestris</i>
CVO1	Óleos essencial da folha de <i>Cordia verbenacea</i>

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>16</b>
<b>2. OBJETIVOS .....</b>	<b>18</b>
2.1 OBJETIVO GERAL .....	18
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	18
<b>3. HIPÓTESES .....</b>	<b>18</b>
<b>4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....</b>	<b>19</b>
4.1 A PISCICULTURA E OS PEIXES NA PESQUISA CIENTÍFICA.....	19
4.2 O BEM ESTAR ANIMAL E O DESENVOLVIMENTO DE ANESTÉSICOS A PARTIR DE PRODUTOS NATURAIS .....	19
4.3 ANESTESIA E MECANISMO DE AÇÃO .....	21
4.4 ANESTÉSICOS SINTÉTICOS EM COMPARAÇÃO COM NATURAIS ...	23
4.5 VIAS DE ADMINISTRAÇÃO E INDUÇÃO ANESTÉSICA EM PEIXES .	25
4.6 A RIQUEZA DA FLORA NATIVA.....	26
<b>4.6.1. Famílias de Plantas Nativas e seus Óleos Essenciais .....</b>	<b>27</b>
4.6.1.1 Asteraceae - <i>Acmella oleracea</i> .....	27
4.6.1.2 Rosaceae - <i>Prunus myrtifolia</i> .....	28
4.6.1.3 Verbenaceae - <i>Aloysia hatschbachii</i> .....	30
4.6.1.4 Rutaceae - <i>Pilocarpus pennatifolius</i> .....	31
4.6.1.5 Salicaceae - <i>Casearia sylvestris</i> .....	33
4.6.1.6 Boraginaceae - <i>Cordia verbenaceae</i> .....	33
<b>4.6.2 Óleos Essenciais como Sedativos e Anestésicos em Peixes.....</b>	<b>35</b>
4.7 O PEIXE <i>Rhamdia quelen</i> COMO MODELO ANIMAL EM PESQUISA ...	37
<b>5. MANUSCRITO .....</b>	<b>39</b>
Abstract.....	40
Introduction .....	41
Materials and Methods .....	43
Discussion.....	56
Conclusion.....	61
Acknowledgements .....	62
References .....	62
<b>6. CONCLUSÃO.....</b>	<b>82</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>83</b>

## APRESENTAÇÃO

A presente dissertação de autoria do Médico Veterinário Carlos Herminio Magalhães Fortes, apresenta os resultados obtidos para fins de defesa de dissertação de Mestrado. Essa inicia com uma breve introdução sobre a aquicultura e aborda a necessidade de se investigar ainda mais o grande potencial de plantas nativas brasileiras, principalmente o uso dos óleos essenciais para o desenvolvimento de novos medicamentos anestésicos e sedativos para o uso médico veterinário. Além disso, enfatiza as vastas propriedades farmacológicas, biológicas e afins presentes nos óleos essenciais das plantas nativas do Brasil. Nesse contexto, se apresenta o objetivo geral, objetivos específicos e se faz uma revisão bibliográfica atualizada sobre os assuntos pertinentes.

Na sequência os resultados da triagem dos óleos essenciais, os quais tiveram sua composição (%) determinada e são apresentados os constituintes químicos presentes em cada óleo essencial, as latências para estágios de indução e recuperação anestésica e nos protocolos de exposição a longo prazo, além de apresentar curvas concentração resposta para cada um dos óleos essenciais em estudo. Dessa forma, todos os resultados encontram-se organizados em um manuscrito científico, sendo discutidos e as possíveis perspectivas futuras para o uso de óleos essenciais de plantas nativas brasileiras. Nesse sentido, a dissertação é finalizada com a sua conclusão e referências bibliográficas.



## 1. INTRODUÇÃO

A aquicultura mundial continua crescendo mais rapidamente do que outros setores de produção de alimentos (FAO, 2020). Nesse contexto, ganha destaque a piscicultura, pois está atualmente em expansão (FAO, 2020), sendo que cerca de quase 90% dos peixes cultivados são de espécies de água doce (WHITTINGTON; CHONG, 2007). Além de sua importância crescente na alimentação (SUÁREZ-MAHECHA et al., 2018), os peixes também estão cada vez mais ganhando espaço dentro dos domicílios brasileiros, pois no último senso do IBGE eles estavam na quarta posição frente aos animais de estimação mais tradicionais, como os caninos, felinos e aves (ABINPET, 2015). Esse interesse por peixes como animais de estimação não ocorre apenas em nosso país, sendo que o Brasil é um grande exportador de peixes ornamentais (IGARASHI, et al., 2004).

Os peixes também estão presentes na pesquisa científica (SMITH, 2014), sendo cada vez mais valorizados como modelos animais em estudos farmacológicos. Dessa forma, a preocupação e os cuidados visando promover o bem-estar dos peixes se intensificam. Nesse sentido, os fármacos sedativos e anestésicos são de extrema importância, pois vão diminuir os efeitos estressores causados pelos manejos, os quais poderiam impactar negativamente na saúde e bem-estar dos peixes. Nesse contexto, encontramos nos produtos naturais uma fonte para o descobrimento de novas substâncias ativas que irão apresentar propriedades farmacológicas anestésicas e/ou sedativas, com menor agressão ao meio ambiente (AFONSO et al., 2010; XIMENES et al., 2013). Ademais, quando comparados aos de origem sintética, os produtos naturais podem ser mais vantajosos, apresentar menos efeitos adversos e possuir efeitos sinérgicos ou antagônicos, pois diferentes constituintes agem em associação (YUNES et al., 2001).

Os óleos essenciais (OEs) de plantas nativas de diferentes famílias, como Asteraceae, Rosaceae, Verbenaceae, Rutaceae, Salicaceae e Boraginaceae, entre outras, precisam ser mais estudados, principalmente para visualizar e determinar seus possíveis

efeitos sedativos e anestésicos, ou seja, estabelecer o efeito depressor do sistema nervoso central, o qual é responsável por perceber o estímulo agressor ou estressor (BARTON, 2002).

No quesito da composição química dos OEs e, em consequência, em suas atividades farmacológicas alguns fatores podem influenciar, como a estação do ano/época de coleta do material vegetal. Além disso, o órgão vegetal extraído, clima e a umidade do solo também afetam as concentrações do componente majoritário, características físico-químicas e até mesmo a composição química total dos OEs (DE FEO et al., 2002). Por isso, a importância de se analisar e determinar as porcentagens de cada constituinte presente nos OEs, principalmente para melhor entender as atividades biológicas / farmacológicas apresentadas.

Muitas propriedades farmacológicas de OEs já são bem conhecidas (SOUZA et al., 2019), como a ação analgésica (PEANNA et al., 2003), sedativa (LEITE et al., 2008), ansiolítica (ALMEIDA et al., 2004; UMEZU et al., 2002) e anticonvulsivante (SOUZA et al., 2006) e dentre outras. No entanto, para muitas espécies das famílias referidas acima não foram descritas atividades depressoras centrais, principalmente em peixes. Assim, são necessários estudos para determinação do potencial sedativo e / ou anestésico, possíveis efeitos adversos e mortalidade dos óleos essenciais, os quais ainda não possuem o possível efeito sedativo e/ ou anestésico estabelecido na produção animal.

Para avaliar a depressão central, considerou-se que sedativos e anestésicos apresentam reflexos sobre vários aspectos fisiológicos dos peixes, entre eles destacam-se os parâmetros comportamentais, que foram observados e registrados neste trabalho. Enfim, a determinação das concentrações efetivas para as atividades sedativas e anestésicas desses OEs são bastante importantes para trabalhos futuros, principalmente para aqueles que vão estabelecer efeito sobre os biomarcadores de estresse, atividades cardiovasculares e estudar o mecanismo de ação central desses OEs, para poder prever suas possíveis interações e estabelecer antídoto no caso de intoxicações, ou seja, a descoberta de possíveis fármacos antagonistas aos efeitos dos OEs estudados.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a atividade sedativa e anestésica dos óleos essenciais de espécies de plantas nativas das famílias Asteraceae, Rosaceae, Verbenaceae, Rutaceae, Salicaceae e Boraginaceae, em jundiás (*Rhamdia quelen*).

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar extração dos óleos essenciais de algumas espécies nativas pertencentes às famílias Asteraceae, Rosaceae, Verbenaceae, Rutaceae e Salicaceae;
- Analisar e determinar a composição química dos óleos essenciais extraídos;
- Determinar as concentrações efetivas para os estágios de indução e recuperação anestésica dos óleos essenciais de plantas nativas em jundiás (*Rhamdia quelen*);
- Avaliar o tempo de indução e recuperação anestésica em juvenis de jundiás;
- Avaliar o comportamento dos animais no protocolo de anestesia de longa exposição aos agentes naturais e determinar eventuais reações adversas, como toxicidade e mortalidade;
- Obter as curvas concentração-resposta para cada óleo essencial em estudo.

## 3. HIPÓTESES

- Dos nove óleos essenciais a serem avaliados, pelo menos um ocasionará sinais clínicos que indicam efeitos sedativos e anestésicos em jundiás;
- Os óleos essenciais que promovem alteração comportamental indicando sedação serão em maior número do que os que ocasionam anestesia;
- Efeitos adversos e mortalidade em jundiás também serão detectados para pelo menos dois óleos essenciais;
- Os efeitos que indicam benefícios e prejuízos aos peixes são dependentes da concentração administrada.

## **4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### **4.1 A PISCICULTURA E OS PEIXES NA PESQUISA CIENTÍFICA**

A piscicultura é uma atividade em expansão no mundo e no Brasil não poderia ser diferente, visto o grande potencial hídrico, vantagens do clima, do empreendedorismo dos piscicultores e do desenvolvimento da pesquisa na área, que atua na busca pelo aumento da produtividade (FAO, 2020). Mesmo com os problemas econômicos recentes e a pandemia, o setor apresentou crescimento (XIMENES, 2021), sendo que a piscicultura vem apresentando ótimo crescimento na produção desde o ano de 2014, sem nenhuma queda (XIMENES, 2021).

Os peixes estão presentes na ciência, pois muitas pesquisas no Brasil e no mundo os utilizam como modelo experimental, ou seja, seu uso em laboratórios aumentou significativamente na última década (SMITH, 2014). Desta forma, é necessário oferecer qualidade de vida a esses animais, os quais vão possibilitar muitas descobertas à ciência e também fornecer proteína de alta qualidade. A utilização dos peixes na produção animal e também para fins científicos exige procedimentos de rotina como biometria, identificação sexual, coleta de sangue, transporte, indução hormonal para reprodução, procedimentos cirúrgicos, entre outros tantos manejos, os quais muitas vezes afetam a condição física e muito fortemente o bem-estar desses animais (ROCHA et al., 2012). Dessa forma, a anestesia nessas manipulações é uma das maiores ferramentas para minimizar o estresse, as lesões físicas e demais injúrias nos peixes (ROSS; ROSS, 2008). Esse procedimento promove bem-estar animal, o qual é uma preocupação constante de muitos autores que trabalham com peixes na pesquisa científica (CARBONE, 2014).

### **4.2 O BEM ESTAR ANIMAL E O DESENVOLVIMENTO DE ANESTÉSICOS A PARTIR DE PRODUTOS NATURAIS**

As atividades de uso animal, com o intuito de produção, provavelmente tiveram início há cerca de dez mil anos atrás (ZEDER; HESSE, 2000). Mas, somente nas últimas décadas o tema bem-estar animal (BEA) ganhou a devida importância, apesar de que ainda há falta de uma educação formal sobre BEA, até mesmo para Médicos Veterinários (MOLENTO, 2003). Além disso, a maioria dos trabalhos sobre bem-estar na produção animal aborda temas sobre os ruminantes, suínos e aves, sendo o assunto relacionado aos peixes menos abordado, ou seja, ainda há um número muito reduzido de estudos acerca de BEA de peixes em geral (BRAITHWAITE; HUNTINGFORD, 2004).

No entanto, existem vários trabalhos sobre a saúde e os mecanismos de estresse em peixes (BARTON, 2002; BARCELLOS et al., 2004; 2006), mas não há uma interação desses estudos com o BEA e suas implicações nesses animais (SNEDDON, 2003). Nesse contexto, entra a sedação, analgesia e anestesia em peixes, como métodos para diminuir a percepção de fatores estressantes e outras injúrias (ROSS; ROSS, 2008). Nesse sentido, a definição de bem-estar é um estado de vida saudável, feliz e seguro (WEHMEIER, 2005). O bem-estar animal terá que proporcionar saúde física e psicológica para os animais. Além disso, as condições ambientais de produção precisam possibilitar a expressão dos comportamentos naturais do animal (KOKNAROGLU; AKUNAL, 2013).

Assim, é necessário especificar aqui as cinco liberdades, as quais hoje especificam o que um animal precisa para estar em bem-estar: o animal precisa estar livre de sede e fome, sendo esta a liberdade nutricional, a liberdade de dor e doença, liberdade de desconforto, liberdade de medo/estresse e a liberdade para expressar o comportamento natural da espécie. Essas hoje são instrumentos mundialmente reconhecidos, mas a importância do bem-estar animal difere na maioria dos países. Isso porque vários fatores influenciam nesse contexto, como religião, educação, economia e entre outras percepções (KOKNAROGLU; AKUNAL, 2013). Nesse contexto, o bem-estar animal necessita ser ainda mais estudado, aplicado no campo e também regulamentado em nível mundial. Especialmente considerando as cinco liberdades e também a declaração dos direitos dos animais, a qual deixa claro que os animais precisam ser respeitados, protegidos, tem o direito de existir e de não sentir dor, sofrimento, abandono e entre outros direitos (UDAW, 2013). Dessa forma, proporcionar o BEA é sem dúvidas melhorar a qualidade de vida desses animais.

O desenvolvimento de fármacos para produção animal originários de plantas é uma grande possibilidade de descobertas, tamanha a dimensão de plantas nativas da

região sul (LIMBERGER et al., 2004) e também em nível nacional, sendo que ainda temos um número reduzido de espécies vegetais com estudos farmacológicos (JACHAK; SAKLANI, 2007). Outro fator a se considerar no caso dos medicamentos de origem natural é a preocupação com o meio ambiente, pois são lançadas no ambiente várias novas substâncias químicas sintéticas por ano, sem avaliação adequada de suas interações com os ecossistemas (BERNARDI et al., 2008), as quais na maioria das vezes causam prejuízos aos ambientes naturais.

Os OEs são produtos com várias atividades farmacológicas já estabelecidas, como por exemplo, anestésica (CUNHA et al., 2010; HELDWEIN et al., 2012; SIMÕES et al., 2012), sedativa (SOUSA, 2011), antifúngica (SIMIÉ et al., 2004), acaricida (MACCHIONI et al., 2006), entre outras. No entanto, as atividades anestésicas, analgésicas, sedativas de muitas espécies de plantas nativas ainda não foram estudadas, como é o caso das muitas espécies das famílias citadas nessa dissertação. Dessa forma, é possível o descobrimento de novas substâncias ativas que poderão auxiliar no BEA e evitar o estresse, a queda da imunidade e outros fatores prejudiciais à qualidade de vida dos animais aquáticos.

#### 4.3 ANESTESIA E MECANISMO DE AÇÃO

A anestesia geral é definida como um estado de inconsciência induzida por um fármaco e essa se caracteriza por uma depressão controlada, porém reversível do sistema nervoso central (SNC) e da percepção (TRANQUILLI et al., 2013). Na sedação o paciente pode responder a estímulos dolorosos e se caracteriza por depressão central, sonolência e certo relaxamento central (TRANQUILLI et al., 2013). Nesse sentido, a anestesia garante que os animais sejam submetidos a procedimentos mais adequados, seguros e promove o bem-estar animal. Ademais, alguns pontos relevantes das anestésias é evitar a dor produzida, relaxar os músculos para a realização das técnicas cirúrgicas e realizar a depressão do sistema nervoso central (SNC). Geralmente os protocolos de indução anestésica são bastante utilizados em animais de companhia (cães, gatos e entre outros). No entanto, em peixes não havia uma preocupação quanto à analgesia, sedação e anestesia, pois se acreditava que esses eram incapazes de nocicepção ou de sentir dor (ROSE, 2002). Mas, a partir de 2003 as pesquisas com os peixes teleósteos sugerem que eles possuem a percepção da dor, ou seja, possuem

nociceptores semelhantes aos encontrados em mamíferos (ASHLEY et al., 2007; ROQUES et al., 2010).

Eventos potencialmente dolorosos, alteração nas respostas comportamentais e fisiológicas em peixes podem ser evitadas na aquicultura, experimentação e também na prática veterinária com o uso de fármacos anestésicos (SNEDDON, 2012). Assim, a sedação e a anestesia leve são eficazes para a realização de procedimentos rápidos em peixes, sendo que a anestesia profunda (total) pode ser utilizada em procedimentos invasivos, pois essa acarreta em perda de consciência, irá minimizar a dor pelo dano tecidual e promove um melhor bem-estar aos peixes (ACKERMAN et al., 2005). Nesse contexto, se faz necessário o uso de técnicas, fármacos e equipamentos adequados para a utilização de protocolos anestésicos em peixes. Esses protocolos de indução anestésica podem variar devido à espécie do peixe e também do anestésico utilizado (STETTER, 2001).

Antes da anestesia, o recomendado, independentemente da espécie e anestésico a ser utilizado, é o jejum. Esse pode ser realizado de 12 a 24 horas antes do procedimento anestésico, sendo que esse é importante, pois se houver a regurgitação pode afetar negativamente a qualidade da água e também acontecer desse material ficar retido nas brânquias do peixe (STETTER, 2001) e acarretar em danos ou até colapso bulbar. Ademais, é de fundamental importância para a anestesia de peixes que os manipuladores tenham atenção aos fatores abióticos (parâmetros de qualidade da água, temperatura, oxigenação e entre outros) e aos fatores biológicos (condição corporal, estágio de desenvolvimento, estado fisiológico, saúde e entre outros) (SNEDDON, 2012). Portanto, o uso de analgésicos, sedativos e anestésicos em peixes possibilita que a dor e o desconforto durante os procedimentos invasivos e não invasivos sejam evitados ou minimizados. Dessa forma, há muitos medicamentos de origem sintética e natural que precisam ser investigados em diferentes espécies de peixes frente a protocolos de anestesia, sendo também importante o desenvolvimento de indicadores que facilitem a identificação da dor em peixes (REILLY et al., 2008; SNEDDON, 2009).

Também é de fundamental importância estudar e conhecer os conceitos da farmacodinâmica, pois essa é definida como aquela que estuda os efeitos fisiológicos e bioquímicos dos fármacos e também do mecanismo de ação desses (GOODMAN; GILMAN, 2006). Assim, vale mencionar os receptores fisiológicos, como os receptores acoplados à proteína G, receptores nucleares e principalmente os canais iônicos, os quais

podem ser regulados por voltagem ou por ligante, como por exemplo, de um ligante fisiológico desses canais, o ácido  $\gamma$ -aminobutírico (GABA) (GOODMAN; GILMAN, 2006). Nesse sentido, o mecanismo de ação dos agentes sedativos e/ ou anestésicos de origem sintética ou natural geralmente envolve um dos principais neurotransmissores inibitórios do SNC, o GABA. Como por exemplo, cita-se os sedativos sintéticos benzodiazepínicos (diazepam) e o propofol, os quais atuam sobre o receptor GABA, sendo agonistas do receptor GABA<sub>A</sub> (CAROFF et al., 2016). Vale destacar que os receptores GABA<sub>A</sub> apresentam sítios de ligação para várias outras substâncias, sendo possível citar também os barbitúricos, anestésicos voláteis e os agonistas etomidato, zolpidem e entre outros ligantes desses receptores (GARCIA; KOLESKY; JENKINS, 2010; SIGEL; STEINMANN, 2012). A ativação dos receptores GABA<sub>A</sub> geralmente acarreta em efeitos sedativos, hipnóticos, relaxantes musculares, anestésicos e entre outros (FOSTER; KEMP, 2006).

Nesse contexto, é necessário citar o flumazenil, o qual é antagonista do sítio benzodiazepínico do receptor GABA<sub>A</sub> e pode ser utilizado, por exemplo, em intoxicações por benzodiazepínicos (BRAAT; KOOY, 2015). Além disso, esse fármaco é bastante utilizado em estudos para estabelecer o mecanismo de ação anestésica de OEs em peixes (HELDWEIN et al., 2012; SILVA et al., 2012; DOS SANTOS et al., 2017), pois se esse reverter os efeitos dos OEs aplicados, pode ser um indicativo de que a ação do agente natural tem participação no sítio benzodiazepínico do receptor GABA<sub>A</sub>. Assim, o mecanismo de ação anestésica de OEs oriundos de plantas como *Lippia alba* e *Ocimum gratissimum* em jundiás foi sugestivo de que a ação tem relação com o sítio benzodiazepínico do receptor GABA<sub>A</sub> (HELDWEIN et al., 2012; SILVA et al., 2012). Já estudos de mecanismo de ação anestésica com os OEs de *Aloysia triphylla* e *Cymbopogon flexuosus* não confirmaram a modulação do sítio benzodiazepínico do receptor GABA<sub>A</sub> em jundiás (DOS SANTOS et al., 2017). Portanto, o mecanismo de ação de um anestésico para peixes deve ser estabelecido, pois possibilita o conhecimento do possível antagonista e, com isso, mais segurança no seu uso.

#### 4.4 ANESTÉSICOS SINTÉTICOS EM COMPARAÇÃO COM NATURAIS

Os fármacos sintéticos, em especial os anestésicos sintéticos, são de alto valor comercial, apresentam restrições legais e venda controlada, sendo então de difícil acesso



e acarretam muitos impactos negativos (VICENTE, 2014). No entanto, os de origem sintética são ainda bastante usados, pois há um número reduzido de anestésicos / sedativos de origem natural frente aos sintéticos. Os fármacos sintéticos mais conhecidos são o metanossulfonato de tricaina (MS-222), a benzocaína, metomidato, 2-fenoxietanol e a quinaldina (Z AHL et al., 2012). Esses são efetivos como anestésicos, porém já foram descritos vários efeitos colaterais em animais aquáticos, como irritação de brânquias, olhos, perda de muco, regurgitação e entre outros (INOUE et al., 2003).

Outro ponto é o período de depuração que o peixe precisa realizar, após o uso dos anestésicos sintéticos. Isso para reduzir os níveis residuais do produto no filé (COYLE et al., 2004). Outro fator bastante importante é que infelizmente no Brasil ainda não existe uma legislação que explique, especifique e ofereça aos piscicultores informações de quais anestésicos são permitidos para o uso nas pisciculturas (FAÇANHA; GOMES, 2005). Dessa forma, as únicas fontes a serem pesquisadas são as recomendações de outros países, como por exemplo, a *Food and Drug Administration* (FDA). Nesse sentido, o único anestésico sintético aprovado para uso em peixes pela FDA é o MS-222.

A dificuldade de se ter acesso a um medicamento anestésico sintético pelo produtor é muito grande, por exemplo, o MS-222 não é produzido no Brasil (FAÇANHA; GOMES, 2005). Portanto, são diferentes dos anestésicos de origem natural, mais especificamente os OEs, os quais são obtidos de plantas, as quais estão presentes muitas vezes em abundância no Brasil (TONDOLO et al., 2013). Isso facilita a extração e a produção em grande escala dos óleos essenciais e também de seus constituintes isolados, como exemplo, o óleo de cravo e o eugenol, respectivamente. Esse é produzido e vendido no Brasil, sendo bastante encontrado nas propriedades que utilizam sedação e anestesia para manejar seus animais. Isso também se deve ao valor de mercado desse anestésico natural, o qual é bem mais vantajoso para aquisição pelo produtor rural.

Isso porque muitos produtores já sabem da importância de se utilizar os anestésicos em peixes, principalmente pelo fato de que no ano de 2011, a instrução normativa interministerial nº 28, trouxe especificações sobre a importância do bem estar animal na produção e a necessidade de reduzir processos dolorosos e oferecer um abate humanitário aos animais. Outro fato bastante novo que essa normativa trouxe na época é a recomendação da utilização de anestésicos para realização de eutanásia em animais aquáticos, também deixou especificada a permissão do uso de fitoterápicos e extrativos

vegetais para o tratamento e a prevenção de patologias em animais aquáticos (BRASIL, 2011).

Nesse contexto, é bastante importante salientar que o não uso de medicamentos sedativos e anestésicos favorece o surgimento de patologias em peixes, pois a falta de um manejo adequado causa estresse nos animais aquáticos (SEGNER et al., 2012) o que acarreta no surgimento de infecções e entre outras doenças conhecidas. Então, o uso dos óleos essenciais e seus constituintes isolados como anestésicos / sedativos é de extrema importância, pois geralmente não apresentam impactos negativos a nossa fauna e flora, são biodegradáveis, de fácil obtenção e de baixa toxicidade para mamíferos (FIGUEIREDO et al., 2008).

#### 4.5 VIAS DE ADMINISTRAÇÃO E INDUÇÃO ANESTÉSICA EM PEIXES

A utilização de anestésicos e sedativos está a ser aplicada em peixes com o intuito de reduzir condições que geralmente são estressantes para os peixes (COYLE et al., 2004). Nesse sentido é necessário elencar as vias de administração desses anestésicos e/ ou sedativos, sendo que pode ser via injetável, oral ou banho de imersão. Nessa última via de administração, a diluição é realizada na água onde se encontra o peixe (NEIFFER; STAMPER, 2009). Além disso, quando dessa diluição, escolhemos uma determinada concentração do anestésico ou sedativo. No entanto, quando utilizamos outras vias podemos nos referir à dosagem. Essas concentrações ou dosagens necessitam de uma boa margem de segurança, rápida metabolização, excreção e também a ausência de efeitos que não sejam benéficos aos peixes, principalmente quando a anestesia ou sedação necessitar ser realizada sucessivamente (KEENE et al., 1998).

Na avaliação da atividade anestésica é de grande importância, elencarem-se alguns estágios de indução e recuperação do sistema nervoso central, principalmente para avaliar-se de maneira criteriosa, por exemplo, o tempo de indução e recuperação do anestésico em estudo. Nesse contexto, pode se estabelecer diferentes tipos de estágios, os quais são (S2) sedação profunda, (S3a) perda parcial do equilíbrio, (S3b) perda total do equilíbrio e (S4) anestesia. Dessa forma, a anestesia é o estágio onde o animal está com ausência das atividades reflexas e não responde a nenhum estímulo externo. Além

disso, vale destacar o estágio de colapso bulbar (GOMES et al., 2011), sendo esses visualizados na **tabela 1**.

**Tabela 1.** Estágios de indução anestésica para determinação da depressão progressiva do Sistema Nervoso Central (SNC) em peixes.

	<b>Estágios</b>	<b>Características comportamentais</b>
S2	Sedação profunda	Perda da reação aos estímulos externos.
S3a	Perda parcial do equilíbrio	Animais nadam de lado.
S3b	Perda total do equilíbrio	Perda da habilidade de nadar, mas os peixes respondem a pressão no pedúnculo caudal.
S4	Anestesia	Perda dos reflexos, os peixes não respondem aos estímulos da pressão no pedúnculo caudal.
S5	Colapso Bulbar	Sem movimentos respiratórios, ou seja, morte.

Adaptado de Gomes et al., 2011.

#### 4.6 A RIQUEZA DA FLORA NATIVA

A fauna e flora brasileira sempre apresentaram uma elevada biodiversidade, sendo que os povos originários sempre a utilizaram de forma terapêutica, especialmente as plantas nativas (PINTO et al, 2002). Dessa forma, destacam-se muitas famílias que possuem espécies que crescem em território brasileiro e apresentam propriedades farmacológicas já comprovadas. Das quase 32 mil espécies de angiospermas mundialmente descritas, 19 mil (57%) são nativas do território brasileiro (SIMÕES et al., 2017). Além disso, vale destacar que o Brasil possui a maior floresta equatorial e tropical úmida do mundo (PINTO et al., 2002).

Nesse contexto, ainda há muito a estudar sobre as plantas nativas do país, sendo que há pouco aproveitamento da diversidade genética das plantas. Principalmente, porque muitas possuem muito potencial para utilização farmacológica, porém ainda não foram avaliadas em suas propriedades nem tiveram seus compostos estudados. Portanto, os estudos com as plantas nativas do Brasil são necessários, pois ainda há muito a se descobrir sobre o potencial de seus compostos uteis a indústria de medicamentos humanos e veterinários.

#### 4.6.1. Famílias de Plantas Nativas e seus Óleos Essenciais

##### 4.6.1.1 Asteraceae - *Acmella oleracea*

A família Asteraceae está presente em todo o mundo, sendo que possui mais de 1600 gêneros, ou seja, está entre as maiores famílias de plantas com flores (ROLNIK; OLAS, 2021) e apresenta cerca de 23.000 espécies (ANDENBERG et al. 2007). Ademais, apresenta estudos, principalmente quanto aos seus potenciais fitoquímicos, os quais geralmente possuem efeitos farmacológicos (ROLNIK; OLAS, 2021), Além disso, no Brasil é onde se encontra boa parte da diversidade dessa família, principalmente nos Estados de Minas Gerais e Bahia (ZAPPI et al., 2003), onde a cobertura vegetal apresenta as formas de cerrado (BAUTISTA, 2000).

Nessa família é classificada *Acmella oleracea* (ou também conhecida como *Spilanthes oleracea*; *Spilanthes acmella* var. *oleracea*; *Anacyclus pyrethrioides* L. Spreng) uma planta popularmente conhecida como jambu no Brasil, pois é utilizada na culinária, no tratamento de tuberculose, anemia e como estimulante de apetite (LORENZI; MATOS 2008) e para combater insetos e parasitas (BENELLI et al., 2019). Também possui ação anti-inflamatória, antioxidante (JAFARINIA; JAFARINIA 2019) e há séculos é utilizada para tratar as dores na cavidade oral devido às propriedades analgésicas (RONDANELLI et al., 2020), aumenta a secreção de saliva (ABEYSINGHE et al., 2014) e possui provável atividades hepatoprotetoras (ACHIKA et al., 2014). Essa espécie nativa do Brasil geralmente cultivada possui crescimento rápido, porém é pequena, ereta e possui inflorescências douradas ou vermelhas, sendo uma planta rica em compostos bioativos e também contém óleos essenciais (SINGH; CHATURVED 2012; PRACHAYASITTIKUL et al., 2013).

O seu principal componente é o espilantol, o qual é responsável pela atividade anestésica (SINGH; CHATURVED 2012; PRACHAYASITTIKUL et al., 2013) e também possui atividade inseticida (BENELLI et al., 2019). No entanto, há muitos outros compostos presentes no OE dessa planta, os quais ainda não foram explorados (BENELLI et al., 2019). Além disso, há relatos importantes com o extrato etanólico de inflorescência de *A. oleracea*, como por exemplo, os efeitos antinociceptivos em camundongos (NOMURA et al., 2013), sendo que esse não causou efeitos colaterais. Já mais especificamente para a produção animal, BARBAS et al. (2016) testou o extrato

ceroso de inflorescências de *A. oleracea* em juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum*) e a concentração de 20 mg L<sup>-1</sup> induziu a anestesia rápida na espécie. IMJAI et al. (2021) testou também a eficácia do extrato de *A. oleracea* e na concentração de 2 ml L<sup>-1</sup> houve potencial anestésico em tilápia do Nilo, sendo observado um tempo médio de recuperação de 3.56 min. Ademais, não foram observadas alterações a nível histopatológico no fígado e nas brânquias das tilápias anestesiadas.

A folha da planta quando mastigada *in natura* ou consumida em pratos típicos (pato no tucupi e tacacá) (BARBOSA et al., 2016a) da região norte resulta em uma sensação de anestesia local. Além disso, é bom ressaltar que é classificada como um alimento seguro para o consumo pelas autoridades Europeias de segurança em alimentos (EFSA, 2015). Outro fator importante é sua sensibilidade à geada, porém em climas quentes é perene (RONDANELLI et al., 2020), sendo que a espécie está distribuída nas regiões tropicais da América Central, Ásia, África e também possui cultivo em diversos lugares do mundo (DUBEY et al., 2013).



**Figura 1.** Exsicata das folhas e inflorescências (A) e inflorescência e folhas (B) de *Acmella oleracea*.  
Fonte: Autor

#### 4.6.1.2 Rosaceae - *Prunus myrtifolia*

Outra família de angiospermas é Rosaceae, a qual tem cerca de 3.000 espécies (PHIPPS, 2014). Tem distribuição mundial e geralmente está presente nas florestas temperadas do Hemisfério Norte, sendo fonte de alimentos e habitat para vários animais (HUMMER; JANICK, 2009). Já no Brasil existem várias espécies exóticas adaptadas dessa família, onde são encontradas algumas de grande valor comercial (HUI et al.,

2019), no quesito de suas frutas, como por exemplo, a pêra (*Pyrus bretschneideri*) (ZHANG et al., 2012), o pêssego (*Prunus persica*) (VERDE et al., 2013) e também muitas flores ornamentais como as rosas (LONGHI et al. 2014).

Além disso, é uma família que apresenta algumas espécies com OE com potenciais propriedades farmacológicas, que são nativas do nosso país. Dessa forma, um dos gêneros pertencentes a essa família merece destaque, pois possui grande importância econômica, sendo na área de alimentos, fitofármacos e também por ter mais de 100 patentes descritas na literatura, as quais envolvem espécies do gênero *Prunus* na formulação. Assim, algumas espécies de *Prunus* são ingredientes de cosméticos clareadores da pele, matéria-prima para alimento na pecuária, nutracêuticos, protetores solares e também são utilizados na produção de licores finos.

A *Prunus myrtifolia* é uma espécie incluída nessa família que possui abundante presença no Rio Grande do Sul. Bastante conhecida como pessegueiro-bravo e o maior dispersor dessa espécie é o pássaro Sabiá-laranjeira (CARVALHO, 2000). Mas, também já há descrição que a espécie é consumida por peixes na Reserva Extrativista do Baixo Rio Juruá (BRAGA; REBÊLO, 2014), sendo que é descrita também na composição do estrato médio da mata no Parque Natural Municipal Rio do Peixe, em Joaçaba, Santa Catarina, sul do Brasil (FAVRETTO et al., 2008). É encontrada também na cidade de Santa Maria, RS, a qual está identificada no Jardim Botânico da UFSM. Ademais, a espécie possui uma característica muito interessante, a qual facilita sua identificação botânica. Isso porque ela possui a presença de duas glândulas maculares na base de suas folhas.

Além disso, geralmente é descrita por ter na composição de seu óleo essencial um aldeído, sendo na maioria das vezes o benzaldeído. Esse sempre aparece em maior porcentagem (IBARRA-ALVARADO et al. 2009) e constitui geralmente mais que 90 % da área do cromatograma. Há também a descrição da presença de 3-hexen-1-ol e também de benzoato de benzila (WEBER et al., 2014), os quais pertencem à classe de álcool e ésteres, respectivamente. Porém, ocorrem em porcentagens bem inferiores ao benzaldeído, que já foi descrito com atividades biológicas, como antimicrobiana e antifúngica (FUJII et al., 2015), sendo também um dos responsáveis pelo odor característico de seus óleos essenciais (KERDOGAN-ORHAN; KARTAL, 2011). No entanto, ainda não foi descrito como anestésico nem sedativo em peixes.



**Figura 2.** Exsicata das folhas (A) com duas glândulas maculares na base da folha e flores (B) de *Prunus myrtifolia*. Fonte: Autor

#### 4.6.1.3 Verbenaceae - *Aloysia hatschbachii*

A família Verbenaceae é amplamente distribuída nas regiões temperadas e tropicais (JUDD et al., 2009), sendo que grande parte das espécies dessa família são encontradas na América Latina (PÉREZ ZAMORA; TORRES; NUÑES, 2018). Além disso, compõem a flora da América do Sul de uma forma bem importante (O'LEARY et al., 2012), pois a família é composta por algumas ervas, arbustos e até árvores (PÉREZ ZAMORA; TORRES; NUÑES, 2018). Nesse contexto, a partir de registros no Rio Grande do Sul por Irmão Augusto as pesquisas sobre essas plantas foram ampliadas (O'LEARY et al., 2016). Desde então, no Estado já foram registrados mais de 10 gêneros e 71 espécies nativas, como por exemplo *Lippia alba*, a qual já foi bastante estudada, principalmente devido à atividade anestésica de seu óleo essencial em peixes (CUNHA et al., 2010; HELDWEIN et al., 2012). Mas, um estudo recente trouxe que atualmente é aceita para essa família a descrição de 32 gêneros e 800 espécies (CARDOSO et al., 2021). Dessa forma, vale a pena estudar mais espécies dessa família, como a *Aloysia hatschbachii*, a qual foi descrita e identificada no RS, na cidade de Canela (CRESPAM, 2010). No entanto, foi caracterizada por ser uma planta nativa e endêmica do Estado do Paraná, região sul. Porém, ainda há muito a se estudar sobre as particularidades morfo-anatômicas e também sobre seus locais de ocorrência.

A planta *A. hatschbachii* ainda não possui estabelecidas muitas propriedades biológicas. Porém, como já descrito anteriormente o gênero *Aloysia* possui muitas espécies com propriedades estabelecidas. Ademais, as indicações etnofarmacológicas demonstram que as espécies de *Aloysia* já são aplicadas para o tratamento de muitas

enfermidades, como antiespasmódicas, cardiotônicas, carminativas e também devido à eficácia sedativa e contra afecções do sistema respiratório (VENDRUSCOLO; MENTZ, 2006; MOHAMMADHOSSEINI et al., 2021). Esse gênero é distribuído pelas Américas, mais precisamente na região sul do continente americano, onde foram descritas 22 espécies (LU-IRVING et al., 2014) e O'LEARY et al. (2016) cita 31 espécies para o gênero, entretanto possuem bastante diversidade em suas áreas de ocorrência (ROJAS et al., 2012).

Várias espécies de *Aloysia* são produtoras de óleos essenciais, como a *A. gratissima*, *A. citriodora* (sinônimo *A. triphylla*), *A. virgata*, *A. lycioides* e *A. polystachya*, sendo já descritas propriedades para seus OEs, como antissépticas e repelentes (SIEDO, 2006). Além disso, há relatos de sua atividade antibacteriana (MONTANARI et al., 2011) e entre outras. Dessa forma, se tornam de grande interesse para indústrias farmacêuticas, de alimentos, veterinárias e afins. Os OEs das espécies desse gênero apresentam algumas variabilidades dependentes principalmente da época e horário de coleta (ROSSATO et al., 2006) e também do material e órgão vegetal (SIMIONATTO et al., 2005; GOMES; FERREIRA, 2005). Ademais, já existem muitos quimiotipos identificados para o gênero *Aloysia*, como o 1,8-cineol, sabineno (ROSSATO et al., 2006), neral, citronelal,  $\beta$ -tujona (LIRA et al., 2008) entre outros. Nesse contexto, as principais características botânicas de *Aloysia hatschbachii* são a forma arbustiva (1,5 m de altura), coloração do caule marrom, as folhas opostas cruzadas e gemas axilares múltiplas (ROMERO et al., 2002).

#### 4.6.1.4 Rutaceae - *Pilocarpus pennatifolius*

A família Rutaceae também merece destaque, pois tem importância econômica por apresentar diversos frutos comestíveis e óleos essenciais (LIAQAT et al., 2018). Essa apresenta em nível pantropical 2000 espécies e 150 gêneros (SOUZA; LORENZI, 2012) e em estudos mais recentes já são descritas aproximadamente 2100 espécies e quase 154 gêneros para a família Rutaceae (APPELHANS et al., 2021). As flores das plantas dessa são utilizadas na produção comercial de óleo (LIAQAT et al., 2018), pois são muito perfumadas. Nesse sentido, a família possui uma característica marcante, a qual é a presença de cavidades secretoras contendo OEs (APPELHANS et al., 2021).



Além disso, alguns constituintes isolados de OEs bastante conhecidos são oriundos de plantas dessa família, como por exemplo, citronela e bergamota (AZIZ et al., 2010).

Vale destacar alguns alcaloides fitocarbazoles oriundos de espécies da família Rutaceae que estão a ser estudados como agentes protetores contra doenças neurodegenerativas (TAN et al., 2022) e parecem ser potencialmente promissores. Ademais, as espécies classificadas no gênero *Pilocarpus* apresentam a pilocarpina (alcaloide), o qual não está presente na composição do óleo essencial. Porém, a substância ativa merece menção, pois tem grande importância econômica, sendo produzidos em escala industrial no Brasil e oriundo geralmente de uma planta nativa do Maranhão, o *Pilocarpus microphyllus* (LUCIO et al., 2002).

Outras espécies similares botanicamente a essa ganham destaque, como é o caso da *Pilocarpus pennatifolius*. Essa é conhecida popularmente como jaborandi ou cutia-branca (SANTOS; MORENO, 2004; SOUZA et al., 2003). No entanto, o gênero *Pilocarpus* abriga várias espécies, as quais recebem a mesma nomenclatura popular de jaborandi. Essa é de ocorrência em vários Estados do Brasil, como Paraná, Santa Catarina, Rio Grande do Sul e entre outros (SOUZA et al., 2003). *P. pennatifolius* possui distribuição latitudinal, sendo essa espécie uma das que apresenta maior diversidade de compostos dentre as espécies de *Pilocarpus* (SANTOS; MORENO, 2004; SAWAYA et al., 2011).

A *P. pennatifolius* ainda possui poucas propriedades estabelecidas frente a outras espécies do gênero, como por exemplo, a *P. microphyllus* (SKOPURA et al., 1996; ALVES et al., 2018; DE ARAUJO SOUSA et al., 2021; ÉZIO et al., 2022). Nesse contexto, essas espécies são na maioria das vezes lembradas por serem detentoras de pilocarpina. No entanto, acumulam metabólitos secundários de fundamental importância, entre os quais estão os OEs (SKOPURA et al., 1998; SANTOS et al., 2004a; APOLINÁRIO et al., 2020).

Os OEs das plantas da família Rutaceae já possuem propriedades biológicas e farmacológicas estabelecidas, como antimicrobiana (DE SOUZA et al., 2005; VENUGOPALA et al., 2013; LV et al., 2015), antitumoral (BISI et al., 2017), antioxidante (KASSIM et al., 2013) e anti-inflamatória (ASGARPANAH, 2012; CHO et al., 2012; SILVA et al., 2013a). Outro fator interessante são as infusões de folhas frescas, folhas secas e extratos, as quais são utilizadas na medicina popular para o tratamento de diabetes, doenças hepáticas, asma e entre outras (DO CARMO et al.,

2018) porém, ainda não estão descritas na literatura científica, sendo, portanto, atividades não comprovadas farmacologicamente.

#### 4.6.1.5 Salicaceae - *Casearia sylvestris*

A família Salicaceae apresenta aproximadamente 1.000 espécies e mais de 50 gêneros (CHASE et al., 2002; BYNG et al., 2016). Nesse contexto, o gênero *Casearia* possui cerca de 180 espécies (ZONG et al., 2019). Dessa forma, a espécie dessa família escolhida para extração do OE nesse trabalho é *Casearia sylvestris*. Essa é uma árvore de porte pequeno, a qual é nativa e possui forte presença na região sul Brasil (MAISTRO et al., 2004). Popularmente é conhecida como cafezeiro-do-mato, guaçatonga, guaçatunga, cambroé, pau-de-lagarto, chá-de-bugre, erva-de-pontada e entre outros (LORENZI, 2008). Esteves et al. (2005) descreveram a essa espécie algumas propriedades de uso na medicina popular, como anestésico tópico, antitérmico, antiofídico, antiulcerativo, antisséptico, antidiarreico, antitumoral e entre outros. Já MORS (2000) abordou que o uso da espécie também acontece em queimaduras e lesões cutâneas, sendo essa planta conhecida pelas ações antirreumática, anti-inflamatória, depurativa, tônica e hemostática para mucosas. Além disso, *C. sylvestris* é bastante utilizada na terapêutica de gengivites, aftas, estomatites e também herpes labial e genital. Para o OE dessa espécie já foram relatadas possíveis propriedades antitumorais (DA SILVA et al., 2008).



**Figura 3.** Exsicata (A) e folhas frescas (B) de *Casearia sylvestris*. Fonte: Autor

#### 4.6.1.6 Boraginaceae - *Cordia verbenaceae*

A família Boraginaceae apresenta 90 gêneros (CHACÓN et al., 2016) e aproximadamente 2.000 espécies por todo o território mundial (DRESLER et al., 2017), especialmente nas Américas do Norte, Central e do Sul (DE MELO 2012). Essa família apresenta folhas alternas, simples, muitas vezes espiraladas e raramente opostas ou verticiladas (MELO; ANDRADE et al., 2007). Além disso, nessa família se encontram plantas de extrema relevância para a farmacologia (DRESLER et al., 2017). No quesito das contribuições taxonômicas para a família, as mais importantes no Brasil são do início da década passada (CAVALHEIRO et al. 2011).

O gênero *Cordia* têm algumas de suas espécies sendo utilizadas na medicina popular para combater úlceras gástricas e também como anti-inflamatórias (ARREBOLA et al., 2004), geralmente o extrato bruto de folhas ou caules é utilizado, sendo aplicado topicamente nas lesões (MATIAS et al., 2010). Assim, elencamos uma espécie para estudar suas propriedades sedativas e/ ou anestésicas em peixes. Essa é conhecida popularmente por erva-baleeira, catinga-de-barão, maria-rezadeira, erva-preta, balieira-cambará e entre outros (LORENZI, 2008). Nesse contexto, esse arbusto aromático nativo, o qual está presente em quase todo o Brasil, com maior proporção na região litorânea (MARTIM et al., 2021). Felizmente o OE dessa planta já se encontra disponível na indústria para ser comercializado, tendo como nome científico *Cordia curassavica* ou também conhecida por *Cordia verbenacea* (ARREBOLA et al., 2004).

A espécie está presente no Rio Grande do Sul e geralmente é encontrada no litoral (MARTIN et al., 2021), tendo muitas indicações terapêuticas, porém a espécie destaca-se devido ao seu óleo essencial, o qual foi usado na produção do primeiro fitoterápico de ação anti-inflamatória desenvolvido totalmente no Brasil (MARQUES et al., 2019). Esse em forma farmacêutica de creme recebeu o nome comercial de Acheflan® e sua produção foi realizada pelo Laboratório Aché (QUISPE-CONDORI et al., 2008; GONELI et al. 2014). Nesse contexto, esse fitoterápico produzido a partir do óleo essencial das folhas dessa planta (GILBERT et al., 2012) foi um sucesso de prescrição e alcançou altos índices de faturamento, sendo exportado para vários países, como Japão, México e entre outros (OLIVEIRA, 2017).

O creme de *Cordia verbenacea* (0,5 %) já apresentou eficácia no tratamento de lesões, tendo sua eficácia comparada ao diclofenaco, principalmente para tratar tendinite crônica e dor miofascial (REFSIO et al., 2005; FLORIANO et al., 2018). Ademais, a espécie é indicada contra inflamações, úlceras, artrites e entre outras (MARQUES et al., 2019). Lorenzi (2008) indica que na medicina popular também é utilizada como

analgésica, anti-inflamatória, antiartrítica, antiulcerogênica, em casos de gota, dores musculares/coluna, contusões, nevralgias, como tônica e entre outras. Além disso, não foram encontrados relatos de efeitos adversos, somente um caso de prurido no local de aplicação (BRANDÃO et al., 2006; GILBERT et al., 2012).

Há também uma descrição da ação antimicrobiana (HERNANDEZ et al., 2007) para o OE das partes aéreas e folhas, sendo observada a eficácia contra algumas bactérias Gram-positivas, fungos e apenas contra um gênero Gram-negativo (*Protium*) (CARVALHO et al., 2004). Uma influência dessa planta na atividade de alguns antibióticos também tem sido relatada, demonstrando que este pode ser um potente agente adjuvante contra bactérias patogênicas, principalmente aquelas do trato respiratório (RODRIGUES et al., 2012). Além disso, possui ação antiulcerogênica (SERTIÉ et al., 2005), atividade antiofídica (TICLI et al., 2005), atividade antifúngica (*Cladosporium cucumerinum* e *Candida albicans*) e propriedades larvicidas contra o mosquito da febre amarela (IOSET et al., 2000). O extrato etanólico das folhas apresentou atividade anestésica e analgésica em ratos, com atividade anestésica detectada nas doses de 1,24 e 2,48 mg/kg, e discreta atividade analgésica nas doses de 2,48 mg/kg (SERTIÉ et al., 2005). No entanto, Roldão et al. (2008) utilizando extrato de folhas de *Cordia verbenacea* não encontraram atividade analgésica, mas demonstraram potente ação antiúlcera em lesões gástricas. Nesse contexto, a indústria farmacêutica tem interesse nesta planta, principalmente para a produção de agentes terapêuticos para uso humano (MICHIELIN et al., 2009).

#### **4.6.2 Óleos Essenciais como Sedativos e Anestésicos em Peixes**

Os óleos essenciais são produtos oriundos do metabolismo secundário das plantas (SOUZA et al., 2019), os quais podem apresentar misturas complexas de componentes (MORAIS, 2009). Esses possuem diversas atividades biológicas (HELDWEIN, 2011) e também podem apresentar atividade central, na dependência de sua composição química (PASSOS et al., 2009). Exemplo disso são os diversos estudos científicos que estabeleceram atividades anestésicas e/ou sedativas para determinados OEs, sendo também visualizado que esses reduziram e atenuaram o estresse nos peixes (SOUZA et al., 2017). Dessa forma, os OEs são misturas de substâncias voláteis, líquidas, lipofílicas, odoríferas (EDRIS, 2007) e que são geralmente constituídos de

vários componentes, os quais apresentam variações em suas propriedades químicas (HUSSAIN et al., 2008).

Até o momento foram estabelecidos importantes OEs para uso em peixes, por meio de estudos utilizando o mesmo modelo experimental escolhido para esse trabalho, como por exemplo o OE de *Lippia alba* (CUNHA, et al., 2010) e seu constituinte majoritário isolado linalol (HELDWEIN et al, 2014; SILVA et al., 2017), também o constituinte isolado do OE de cravo, o eugenol (CUNHA, 2007). Além dos já citados, destacam-se os OEs de *Aloysia tryphylla* (PARODI, et al., 2014), *Hyptis mutabilis* (SILVA et al., 2013b), *Ocimum gratissimum* (SILVA et al., 2012), *Ocimum americanum* (SILVA et al., 2015), *Nectandra grandiflora* (GARLET et al., 2019) e do constituinte isolado deidrofuquinona (GARLET et al., 2017). Além disso, o OE de *Cymbopogon nardus* induz a anestesia profunda, sendo visualizada perda de tônus muscular e depressão cardiorrespiratória transitória, na dependência da concentração e da espécie aquática avaliada (BARBAS et al., 2017a).

Vários OEs utilizados em peixes já apresentaram diferentes atividades descritas, como na prevenção ao estresse oxidativo, diminuição do cortisol plasmático em jundiás (SOUZA et al., 2018) e também geralmente apresentam rápida dispersão em membranas biológicas, pois apresentam lipossolubilidade/propriedades lipofílicas. Dessa forma, acabam por modular muitas funções no organismo, principalmente em nível de sistema nervoso central (SNC) (MANAYI et al., 2016). Assim, já existem vários trabalhos como esse que buscam estabelecer o potencial anestésico e sedativo de óleos essenciais, como os que já foram citados e também os de plantas como *Hesperozygis ringens*, *Lippia sidoides*, *Melaleuca alternifolia*, *Nectandra megapotamica*, *Ocotea acutifolia* e, entre outras (HAJEK, 2011; GRESSLER et al., 2014; TONDOLO et al., 2013). Portanto, vários óleos essenciais oriundos de plantas apresentam propriedades anestésicas e/ ou sedativas frente a espécies aquáticas (ROSS, ROSS, 2008; CUNHA et al., 2011).

No entanto, visto a grande variedade de estruturas químicas, atividades farmacológicas e mecanismos de ação detectados para os OEs de plantas nativas e seus compostos majoritários (HELDWEIN, 2011), e considerando a grande biodiversidade de nosso país (SIMÕES et al., 2017), os metabólitos vegetais secundários das espécies nativas têm um potencial farmacológico a ser explorado. Dessa forma, os OEs de plantas nativas são promissores para o desenvolvimento de novos fármacos (SOUZA et al., 2019), principalmente para o uso veterinário, ou seja, podem substituir muitos

fármacos sintéticos (AHMAD; BEG, 2001). Assim, surge a necessidade de novas descobertas de OEs, os quais tenham atividade depressora do sistema nervoso central, pois há uma falta desses no mercado, principalmente para substituir sedativos/anestésicos sintéticos de difícil acesso e de alto valor comercial (VICENTE, 2014).

#### 4.7 O PEIXE *Rhamdia quelen* COMO MODELO ANIMAL EM PESQUISA

Nas últimas décadas, os peixes estão sendo utilizados de maneira intensa como modelos experimentais em laboratórios de pesquisa (SMITH, 2014), principalmente para o desenvolvimento de medicamentos para a produção animal. Nesse contexto, se destaca a espécie nativa da América Latina e do México, conhecida popularmente por Jundiá (*Rhamdia quelen*), pois tem ótimo potencial de desenvolvimento (ADORIAN et al., 2020), sendo um dos peixes nativos mais estudado no Brasil (GOMES et al., 2000; BALDISSEROTTO, 2004; LAZZARI et al., 2006; CUNHA et al., 2010; BECKER et al., 2012; SUTILI et al., 2013; BALDISSEROTTO et al., 2014; SOUZA et al., 2015; PES et al., 2016; BANDEIRA JUNIOR et al., 2018). Dessa forma, muitos piscicultores da região Sul do Brasil tiveram interesse na criação dessa espécie, sendo que hoje a maior parte do cultivo está concentrada nas regiões sul, principalmente Rio Grande do Sul (GOMES et al., 2000; LAZZARI et al., 2006).

Porém, não foram somente esses fatos que chamaram a atenção dos produtores e pesquisadores, mas também pelo jundiá ser resistente às baixas temperaturas, aceitar diferentes tipos de dieta, ser de rápido crescimento e se adaptar a ambientes artificiais (CARNEIRO et al., 2002; COLDEBELLA; RADÜNZ, 2002; BARCELLOS et al., 2004; FRACALOSSO et al., 2004). Dessa forma, o país vem expandindo suas áreas produtivas e busca por sistemas de produção intensivos, os quais aumentam produtividade, porém também elevam o estresse nos peixes, geralmente pelo excesso de manuseio e da necessidade de transporte (DA SILVEIRA et al., 2009) o que também pode desencadear várias doenças. Nesse sentido, surge a necessidade de pesquisar e desenvolver fármacos específicos para o uso em aquicultura. Dessa forma, o mais apropriado para esse caso é a utilização de peixes como modelo experimental.

O jundiá (*R. quelen*) é bastante utilizado como modelo de experimentação em pesquisas farmacológicas. Assim, já foi utilizado para determinação de concentrações adequadas de OEs e de seus constituintes isolados para sedação e/ ou anestesia (CUNHA et al., 2010; PARODI et al., 2014; BECKER et al., 2012), em estudos de mecanismo de ação GABAérgico, os quais visavam explicar o efeito depressor central e tóxico dos extrativos (HELDWEIN et al., 2012; SILVA et al., 2012; 2013; BENOVIĆ et al., 2015; BIANCHINI et al., 2017). Já foi utilizado para avaliações de tolerância às concentrações ativas quando em exposição repetida como, por exemplo, ocorre com benzodiazepínicos (SILVA et al., 2012), avaliação da potência de indução anestésica de constituintes isômeros (SILVA et al., 2017) e para se analisar a expressão gênica do receptor GABAérgico no tecido cerebral (GARLET et al., 2019).

Esse peixe também foi utilizado para determinação de ação antiparasitária de OEs/ e constituintes isolados (DA CUNHA et al., 2017; HEINZMANN et al., 2011; SUTILI et al., 2013), antibacteriana (ROSA et al., 2019; SUTILI, et al., 2013) e analgésica (RODRIGUES et al., 2019). Além disso, existem estudos realizados com o jundiá na década passada, os quais avaliam o potencial aversivo de anestésicos (BANDEIRA JR. et al., 2021), de OEs como promotores de crescimento (ZEPPENFELD et al., 2016) e também em estudos farmacocinéticos (BIANCHINI et al., 2020), entre outros. Portanto, os estudos indicam que a espécie *R. quelen* é adequada e bastante utilizada como modelo animal.

## 5. MANUSCRITO

1 ANESTHETIC POTENTIAL OF ESSENTIAL OILS FROM NATIVE BRAZILIAN  
2 PLANTS IN SILVER CATFISH JUVENILES (*Rhamdia quelen*)

3  
4  
5 Carlos Herminio Magalhães Fortes<sup>a</sup>; Fabiola Tonelli Ferrari<sup>b</sup>; Bernardo Baldisserotto<sup>a,c</sup>;  
6 Denise Schmidt<sup>d</sup>; Fabrício Jaques Sutili<sup>e</sup>; Paulo Fernando dos Santos Machado<sup>e</sup>;  
7 Frederico Dimas Fleig<sup>e</sup>; Berta Maria Heinzmann<sup>a,f\*</sup>;  
8  
9  
10

11 <sup>a</sup> Postgraduate Program in Pharmacology, Federal University of Santa Maria, Santa  
12 Maria, RS, Brazil

13 <sup>b</sup> PIBIT Scientific Initiation Scholarship at the Laboratory of Plant Extractives, Federal  
14 University of Santa Maria, RS, Brazil.

15 <sup>c</sup> Department of Physiology and Pharmacology, Federal University of Santa Maria,  
16 Santa Maria, RS, Brazil

17 <sup>d</sup>Department of Agronomic and Environmental Engineering, Federal University of  
18 Santa Maria, Frederico Westphalen Campus, Frederico Westphalen, RS, Brazil

19 <sup>e</sup>Department of Forest Sciences, Center for Rural Sciences, Federal University of Santa  
20 Maria, Santa Maria, RS, Brazil

21 <sup>f</sup> Department of Industrial Pharmacy, Federal University of Santa Maria, Santa Maria,  
22 RS, Brazil

23  
24  
25  
26 **\*Corresponding author:** Prof.<sup>a</sup> Dra. Berta Maria Heinzmann. Universidade Federal de  
27 Santa Maria, Centro de Ciências da Saúde, Departamento de Farmácia Industrial,  
28 Universidade Federal de Santa Maria, Avenida Roraima nº 1000, Bairro Camobi, Santa  
29 Maria, RS, Brazil, BR-97105.900. E-mail: berta.heinzmann@gmail.com Phone: +55 55  
30 3220 9674 Fax: +55 55 3220 8248



31 **ABSTRACT**

32

33         The sedative and anesthetic actions of several essential oils (EOs) in fish have  
34 been demonstrated, stimulating the search for new natural anesthetics options. Thus, the  
35 sedative and anesthetic efficacy of the EOs of six plants native to Brazil, *Acmella*  
36 *oleracea* (jambu), *Prunus myrtifolia* (pessegueiro-do-mato), *Aloysia hatschbachii*,  
37 *Pilocarpus pennatifolius* (jaborandi), *Casearia sylvestris* (guaçatonga) and *Cordea*  
38 *verbenacea* (erva-baleeira) were tested in silver catfish (*Rhamdia quelen*) juveniles (n =  
39 eight per group). The fish were acclimated in the laboratory for a week. The plant  
40 materials come from the cities of Frederico Westphalen, Santa Maria and São João do  
41 Polêsine, RS. The extraction of EOs was performed by hydrodistillation in a Clevenger  
42 apparatus, for 3 hours. Furthermore, one of the OEs was acquired commercially in a  
43 specialized company. The determination of the EOs chemical composition was  
44 established by gas chromatography. The concentrations of the EOs tested ranged from  
45 20 to 400 mg L<sup>-1</sup> in the anesthetic induction and recovery protocols. In long-exposure  
46 trials, the concentrations studied ranged from 10 to 100 mg L<sup>-1</sup>. In this context, EOs  
47 showed sedative and/or anesthetic activities, but in certain concentrations there were  
48 important adverse effects and/or mortality. Considering the results obtained, some EOs  
49 can be considered promising for the use in aquaculture, such as the EO of *Pilocarpus*  
50 *pennatifolius* (50 mg L<sup>-1</sup>), *Cordia verbenacea* (50 mg L<sup>-1</sup>) and *Casearia sylvestris* (100  
51 mg L<sup>-1</sup>) for sedation, *Prunus myrtifolia* and *Aloysia hatschbachii* for sedation and  
52 anesthesia.

53

54 **Keywords:** Sedation; Anesthesia; Recovery; Safety; Adverse effects.

## 55 Introduction

56

57 Animal production, more specifically the aquaculture sector in Brazil and in the  
58 world, is one of the activities that has shown one of the highest growth rates in recent  
59 years (ANUALPEC, 2018; FAO, 2020). However, several basic procedures in fish  
60 farming, such as biometrics and transport, can be stressful when no sedative/anesthetic  
61 is used (SOUZA et al, 2019). In this context, the use of anesthetics comes in, but those  
62 of synthetic origin (tricaine methanesulfonate - MS-222, benzocaine and others) are  
63 expensive (BARBAS et al., 2017) and can cause mucus loss, tissue irritation, hypoxia,  
64 acidosis and increased serum cortisol, among other adverse effects (Z AHL et al., 2011;  
65 SNEDDON, 2012).

66 Thus, those of natural origin stand out, more precisely essential oils (EOs) and  
67 their isolated constituents (SOUZA et al., 2019), mainly because they are biodegradable  
68 and may present low intoxication rates (FIGUEIREDO et al., 2008). In addition, most  
69 of the time they are very close to what is expected of an ideal anesthetic for animal  
70 production, that is, they have characteristics such as good availability, ease of use, and  
71 are safe for the environment, the animal and the handler (BARBAS et al., 2020). They  
72 cause a reduction in the release of chemical residues to the environment (AMANI;  
73 JAMES, 2007) and minimize stress and mortality (BHUVANESWARI et al., 2015).  
74 The choice of plant species was also based on their botanical classification, since they  
75 belong to families that have already species with promising activities for sedation,  
76 analgesia and anesthesia, having sometimes been evaluated in another experimental  
77 models.

78 The *Acmella* genus is distributed in tropical and subtropical regions, and more  
79 than 60 species are classified in this genus (SAHU et al., 2011). In this sense, the  
80 species *A. oleracea* of the Asteraceae family stands out in Brazil, as it is cultivated  
81 throughout the year (ROMÃO et al., 2015), usually in wetlands (TIWARI et al., 2011).  
82 It has flowers and leaves with a spicy flavor and when ingested, they cause a sensation  
83 of numbness and tingling in the tongue (WONGSAWATKUL et al., 2008). The genus  
84 *Prunus* is present in the northern, southern, and southeastern Brazil and has species of  
85 high commercial value, such as *P. persica* (peaches), *P. domestica* (plums), *P. dulcis*  
86 (almonds) (SOUZA; LORENZI, 2005), among others. Thus, a species of this genus and

87 belonging to the Rosaceae family, *P. myrtifolia*, also stands out, as it is a native plant  
88 with wide geographic distribution in the country. The genus *Aloysia* has importance for  
89 aquaculture, because some of its species offer benefits to this sector, such as the plant  
90 species *A. tryphylla* (PARODI et al., 2020). It also presents a species that showed  
91 possible antidepressant and anxiolytic properties in studies with *Danio rerio* (MELO et  
92 al., 2019). Thus, this genus has species to be characterized, such as *A. hatschbachii*,  
93 from the Verbenaceae family.

94 The genus *Pilocarpus* of the Rutaceae family has eleven species which are  
95 exclusive to Brazilian territory, and this family has remarkable morphological  
96 characteristics, as it has schizogenous secretory cavities rich in EOs (APPELHANS et  
97 al., 2021). In this sense, *P. pennatifolius* needs to have its EO studied because the  
98 investigations of species of this genus usually look for a specific alkaloid (pilocarpine)  
99 of pharmacological importance, which is not present in the EO. The genus *Casearia* has  
100 approximately 180 species and belongs to the Salicaceae family, which is easy to  
101 hybridize (ZONG et al. 2019). *Casearia sylvestris* is an example of a native plant that  
102 stands out for its possible antitumor properties (DA SILVA et al., 2008). In this context,  
103 they need to have their properties even more established, especially in terms of sedative  
104 and/or anesthetic potential. The genus *Cordia* is widely distributed in tropical and  
105 subtropical regions of the world, this one belongs to the Boraginaceae family, which  
106 varies widely, mainly in terms of floral and fruit characteristics (ATTAR et al. 2018).  
107 Thus, *Cordia verbenacea* stands out as a native aromatic shrub which is present  
108 throughout Brazil, with a higher proportion in the coastal region (MARTIN et al.,  
109 2021). Therefore, studying nine EOs from these six native plants, we aimed to establish  
110 whether they would have sedative and/or anesthetic potential, if at least one has  
111 adequate anesthetic induction and recovery times and does not result in adverse effects  
112 and/or mortality.

113 In this context, the experimental model used was the silver catfish (*Rhamdia*  
114 *quelen*), a fish species native to southern Brazil, widely used to establish effects of  
115 progressive depression of the central nervous system and also for production purposes  
116 (BALDISSEROTTO et al., 2014; PES et al., 2016). Therefore, the objective of this  
117 study was to evaluate essential oils from Brazilian native plants, collected and/or  
118 cultivated in Rio Grande do Sul (RS), which had not yet their sedative and anesthetic  
119 properties tested and established in fish and crustaceans.

120

## 121 **Materials and Methods**

122

### 123 2.1 *Study Strategy*

124

125 In this work juveniles of *Rhamdia quelen* were used as an animal model to  
126 evaluate the potential of nine essential oils, from six Brazilian medicinal plants, for the  
127 generation of new sedatives and/or anesthetics for fish. The silver catfish juveniles were  
128 acclimatized for two weeks and exposed to essential oils individually, in all protocols.  
129 Before the experiments, the fish were fasted for 12 hours and the oils were previously  
130 diluted in 95% ethanol (1:10) and added directly to the aquarium water. Thus, the  
131 administration occurred by inhalation of essential oils by the fish. Clinical and  
132 behavioral signs compatible with central depression were evaluated. Times were  
133 recorded in s, weight in g and size in cm.

134

### 135 2.2 *Collection of plant material*

136

137 Six species of plants native to Brazil were collected or cultivated in the state of  
138 RS (Table 1) to furnish nine essential oils.

139

### 140 2.3 *Obtaining essential oils and analyzing their chemical compositions*

141

142 The EOs were obtained by hydrodistillation for three hours, using a modified  
143 Clevenger apparatus (EUROPEAN PHARMACOPOEIA, 2010). The oils were placed  
144 in amber glass vials, sealed and stored at -4 °C. Qualitative analysis of the composition  
145 and percentage of EO components was performed by gas chromatography in an Agilent  
146 7890A hyphenated system, equipped with a 5975C series mass selective detector. The  
147 analysis parameters were as follows: split inlet injection mode 1:50; carrier gas: He (1  
148 mL min<sup>-1</sup>); DB5-MS fused silica capillary column (5% phenylmethylsiloxane, 30 m x  
149 0.25 mm, film thickness: 0.25 µm); oven heating program: 40°C, (Ti) for 4 min, 40-  
150 320°C at 4°C/min; inlet, detector and interface temperature: 250 °C. The components  
151 were identified by comparing the fragmentation patterns of the mass spectra and the  
152 Kovats retention indices (KI), determined using a calibration curve of a homologous

153 series of n-alkanes (C8-C40), with literature data and with the equipment library (NIST,  
154 2008; ADAMS, 2011; SILVA, 2015; GARLET et al., 2019). The quantification of the  
155 compounds was performed by gas chromatography with flame ionization detection in an  
156 Agilent 7890A chromatograph. The analysis parameters were the same as mentioned  
157 above, with the exception of the splitless injection, as well as the inlet and detector  
158 temperature (300 °C).

159

#### 160 2.4 *Fish maintenance*

161

162 The present study is registered in SISGEN under No. A6FA8B7 and was  
163 approved by the Ethics Committee of UFSM, under No. 6037240221. 248 juveniles (n  
164 = 8) of silver catfish (*Rhamdia quelen*) were used for the protocol of item 2.4 and 208  
165 individuals of the same species for the experiment described in 2.5. The total number of  
166 animals used was 456, weighing  $4.52 \pm 1.66$  g and with a size of  $7.49 \pm 1.22$  cm. These  
167 were acquired in a fish farm in Santa Maria, RS and transported to the Fish Physiology  
168 Laboratory. The fish were placed in 250 L tanks with constant aeration, protected from  
169 light, at 22 °C, fed with commercial ration (32% of CP), supplied until satiation three  
170 times a day (8, 13 and 18 h). Daily, 10% of the water in the tanks was replaced 30  
171 minutes after feeding, to remove faeces and uneaten food. In addition, dissolved oxygen  
172 levels were measured daily with a YSI55 oximeter ( $6.67 \pm 0.20$  mg L<sup>-1</sup>), pH with pH  
173 meter ( $7.52 \pm 0.24$  units) and temperature ( $22.1 \pm 0.85$  °C). The animals were tested  
174 individually in aquariums (11.5 cm high x 12.5 cm wide x 17.5 cm long) containing 1 L  
175 of aerated water. At the end of the protocols, euthanasia was performed. Therefore the  
176 fish were anesthetized by immersion in eugenol (100 mg L L<sup>-1</sup>) and then bone marrow  
177 transection was performed (BALKO et al., 2018).

178

#### 179 2.5 *Sedative and/or anesthetic induction and recovery*

180

181 The EOs were previously diluted in 95% ethanol (1:10), and were tested at the  
182 following concentrations (n= 8): AOOI - 50, 100, 200 and 300 mg L<sup>-1</sup>; AOOi - 20, 80  
183 and 100 mg L<sup>-1</sup>; AHOI - 50, 100 and 300 mg L<sup>-1</sup>; PMOI - 100, 200 and 300 mg L<sup>-1</sup>;  
184 PMOi - 100 and 300 mg L<sup>-1</sup>, PPOI - 50, 100 and 300 mg L<sup>-1</sup>; CSOI<sub>1</sub> and CSOI<sub>2</sub> - 100,  
185 200 and 300 mg L<sup>-1</sup>; CVOI - 50, 80, 100, 200, 300 and 400 mg L<sup>-1</sup>. The samples were

186 initially evaluated in pilot tests, with a concentration of 100 mg L<sup>-1</sup>. Thus, if 100 mg L<sup>-1</sup>  
187 induced stage S4, lower concentrations were tested. If S4 was not reached, the  
188 concentrations to be tested were increased. Eugenol (50 mg L<sup>-1</sup>) (CUNHA et al. 2010)  
189 was used as a positive control. Anesthetic and/or sedative induction and recovery were  
190 evaluated using the stages described by GOMES et al. (2011): S2 - deep sedation (loss  
191 of reaction to external stimuli); S3a - partial loss of balance (animals swim sideways);  
192 S3b - total loss of balance (loss of swimming ability, but fish respond to pressure on the  
193 caudal peduncle, descending to the bottom of the aquarium); S4 - anesthesia (loss of  
194 reflexes; fish do not respond to pressure stimuli on the caudal peduncle) and S5 - bulbar  
195 collapse (respiratory movements cease/death).

196       When the animals reached the S4 stage, or within a maximum time of 30 min.,  
197 they were transferred to recovery aquariums, which contained only 1 L of water and  
198 aeration. To determine the recovery times, the time elapsed until the fish returned to  
199 normal swimming behavior was observed. Each animal was used only once and the  
200 induction and recovery times were measured with a digital stopwatch.

201

202

## 203 2.6 *Long-term exposure protocol*

204

205       In this experiment, fish (n= 8) were exposed individually and all at the same  
206 time to EOs for up to 48 h, and were observed for 5 min at times of 0, 10, 20 and 30  
207 min, 1, 2, 3, 6, 12, 24 and 48 h, to check possible adverse effects and mortality. The  
208 concentrations (Table 2) were chosen according to the adverse effects that some EOs  
209 presented in the protocols described in Sedative and/or anesthetic induction and  
210 recovery and/or because they are sedative concentrations, aiming to evaluate possible  
211 bulbar collapse or intensification of observed adverse reactions. In addition, a stimulus  
212 was applied to the caudal peduncle with a glass rod, in specimens that appeared to be in  
213 the S4 stage. The control used in this protocol was ethanol, which had no effect on the  
214 experimental models. Ethanol was used to assess whether it really did not cause adverse  
215 effects and/or mortality in fish. Eugenol was not used in this protocol, since we did not  
216 want to compare adverse effects and/or mortality.

217

## 218 2.7 *Statistical Analysis*

219

220 Comparisons between the different concentrations of each EO were performed  
221 using the Kruskal-Wallis test for non-parametric data followed by Dunn's test, using  
222 Prism software version 9.0. The significance level considered was 5% ( $p < 0.05$ ). To  
223 construct the concentration-response curves, the “log (agonist) vs. Response – Find E  
224 Canything” available in the software were applied. The parameter indicated was EC50,  
225 thus, the concentration of the agonist (X) that offers an average response between  
226 minimum and maximum was considered. In this way, the data were obtained according  
227 to the following equation:

$$228 \quad Y = \text{Minimum} + (\text{Maximum} - \text{Minimum}) / (1 + 10^{-(\text{LogEC50} - X)}).$$

229

## 230 **Results**

231

### 232 *3.1 Chemical composition of essential oils*

233

234 The major compounds of each EO were  $\beta$ -Ocimene (for AOOi),  $\beta$   
235 Caryophyllene (for AOOl), Eucalyptol (for AHOl), Benzaldehyde (for PMOi and  
236 PMOl), 2-Undecanone (for PPOl), Germacrene D (for CSOl<sub>1</sub> and CSOl<sub>2</sub>) and  $\alpha$ -pinene  
237 (for CVOl) (Table 3).

238

### 239 *3.2 Anesthetic induction and recovery protocol*

240

241 Sedation (S2) with eugenol 50 mg L<sup>-1</sup> was achieved in  $23.5 \pm 6.6$  s and  
242 anesthesia (S4) in  $205.8 \pm 32.3$  s, with a recovery time of  $533.5 \pm 117.1$  s.

243

#### 244 *3.2.1 Acmeilla oleracea essential oils (AOOi and AOOl)*

245

246

247

248 Silver catfish exposed to AOOi [**table 4. (a)**] at 20 mg L<sup>-1</sup> took longer to reach  
249 stages S2, S3a and S3b than those submitted to 80 and 100 mg L<sup>-1</sup>. However, there was  
250 no statistically significant difference in the time taken to reach S4 between the three  
251 concentrations. Fish anesthetized with 20 and 80 mg L<sup>-1</sup> recovered within 30 min. Of  
252 the AOOl evaluated concentrations [**table 4. (b)**], 50 mg L<sup>-1</sup> was the one that took the  
253 longest to reach S2, in contrast to the concentration of 300 mg L<sup>-1</sup>, which was the faster  
to reach this stage. Considering all concentrations evaluated, the time to reach stage S2

254 was inversely proportional to the increase in concentration. In general, the same pattern  
255 was also observed for stages S3a and S3b. In the anesthesia stage (S4) the  
256 concentrations of 100 and 300 mg L<sup>-1</sup> differed from each other.

257

### 258 3.2.2 *Aloysia hatschbachii* essential oil (AHOI)

259

260 The concentrations of AHOI evaluated [table 4. (c)] did not differ statistically to  
261 reach stage S2. The concentration of 300 mg L<sup>-1</sup> reached the S3a and S3b stages in a  
262 shorter time. The times to reach S4 and recovery did not show statistical differences  
263 between the evaluated concentrations.

264

### 265 3.2.3 *Prunus myrtifolia* essential oils (PMOi and PMOI)

266

267 In the evaluation of PMOi [table 4. (d)] there was no statistically significant  
268 difference to reach S2 between concentrations. At 100 mg L<sup>-1</sup>, stages S3a, S3b and S4  
269 were not reached, contrary to what was observed for 300 mg L<sup>-1</sup>. The recovery times of  
270 silver catfish submitted to concentrations of 300 and 100 mg L<sup>-1</sup> did not show  
271 significant differences. For PMOI [table 4. (e)] the three concentrations evaluated did  
272 not show statistical differences regarding the time required for silver catfish to reach the  
273 S2 stage. However, only the two highest concentrations reached S3a, S3b and S4, but  
274 no statistical difference was found. Regarding recovery, the times did not show  
275 statistical differences between concentrations.

276

### 277 3.2.4 *Pilocarpus pennatifolius* essential oil (PPOI)

278

279 For PPOI [table 4. (f)] the three concentrations evaluated did not differ in time  
280 to reach stage S2. The stages S3a, S3b and S4 were reached only by the concentration  
281 of 300 mg L<sup>-1</sup>. In terms of recovery, the concentrations of 50 and 100 mg L<sup>-1</sup> did not  
282 differ statistically, however the fish in these groups recovered faster than those  
283 submitted to the highest concentration, of 300 mg L<sup>-1</sup>.

284

### 285 3.2.5 *Casearia sylvestris* essential oils (CSO<sub>1</sub> and CSO<sub>2</sub>)

286



287           None of the tested concentrations of essential oil from CSOL<sub>1</sub> [table 4. (g)]  
288 reached stages S3b and S4. Furthermore, only under the action of 300 mg L<sup>-1</sup> the fish  
289 reached S3a stage. In addition, no significant differences were found between the  
290 concentrations studied regarding recovery times. In the evaluations with CSOL<sub>2</sub> [table 4.  
291 (h)], the concentrations took the fish only to S2, being the shortest time to induce this  
292 stage observed for 300 mg L<sup>-1</sup>. However, the times of the two lowest concentrations did  
293 not differ statistically from each other. Furthermore, the recovery times also did not  
294 differ between the concentrations evaluated.

295

### 296 3.2.6 *Cordia verbenacea* essential oil (CVOI)

297

298           Regarding the evaluations with CVOI [table 4. (i)], an inversely proportional  
299 relationship between concentration and induction time was observed for S2, which was  
300 reached by all concentrations studied. Stages S3a and S3b were not reached by 50 and  
301 80 mg L<sup>-1</sup>, which, in the same way as the concentration of 100 mg L<sup>-1</sup>, did not lead the  
302 fish to stage S4. The concentrations that induced S3a also followed the same pattern, i.  
303 e., the increase in concentration decreased the time observed to reach this stage, but  
304 without statistical difference. Stages S3a and S3b were reached by fish submitted to  
305 concentrations of 100 – 400 mg L<sup>-1</sup>, without significant difference between them. S4  
306 stage was induced between 200 – 400 mg L<sup>-1</sup>, also without significant differences  
307 between the concentrations. Recovery times did not differ statistically from each other.

308

### 309 3.3 *Long exposure protocol*

310

#### 311 3.3.1 *Acmella oleracea* essential oils (AOOi e AOOI)

312

313           For AOOi [Figure 1(a)], the concentration of 10 mg L<sup>-1</sup> induced the S4 stage in  
314 fish, from 30 min to 2 h; afterwards, the fish reached the S5 stage, with total mortality.  
315 At 25 mg L<sup>-1</sup> the silver catfish reached S4 stage in 20 min, however in 30 min some  
316 individuals were in S5 and in the evaluation of 1 h, 87.5% of the animals were dead.  
317 After 3 h, all fish were in S5. At the concentration of 30 mg L<sup>-1</sup>, the animals entered S4  
318 stage from 20 min to 2 h, and at 3 h, all were in S5 stage. In the long-exposure protocols  
319 with AOOI [Figure 1 (b)], the concentration of 10 mg L<sup>-1</sup> sedated part of the animals at  
320 10 minutes and in the evaluation of 20 and 30 minutes all fish were in S2. From this

321 moment until the last evaluation (48 h) all animals showed normal behavior. At 25 mg  
322 L<sup>-1</sup> the fish remained in S2 stage from 10 to 30 minutes. However, after 1 h, all showed  
323 normal behavior, which was repeated until the last evaluation, however 12.5% of the  
324 fish were in S5 in the 48-hour evaluation. At 70 mg L<sup>-1</sup>, after 10 minutes, the animals  
325 were in S2, at 20 minutes 50% of the fish were in S2 and the others in S3a or presented  
326 normal behavior. In the evaluation after 2 h, the S2 stages were visualized in 62.5% of  
327 the fish, and the S3b and S4 stages were visualized in the other fish. However, after 3 h,  
328 37.5% of the fish were observed in S2, and the other animals were in S3a, S3b and  
329 without central depression. In the evaluation after 12 hours, all were normal.

330

### 331 3.3.2 *Aloysia hatschbachii* leaves essential oil (AHOl)

332

333 At 20 mg L<sup>-1</sup>, after 10 min to 3 h, all animals were in S2. However, from 3 to 6  
334 h, 87.5% of the animals remained in S2. After 12 h of the beginning of the experiment,  
335 the animals showed normal behavior, remaining in this state until the last evaluation (48  
336 h). At the concentration of 50 mg L<sup>-1</sup>, after 10 minutes 75% of the fish were in S4 and  
337 the others in S3b. However, after 20 minutes, 87.5% of the fish were in S4 and the  
338 others in S3b, and after 30 minutes they were all in S4. In the evaluation after 1 h of the  
339 beginning of the experiment, the events observed at 20 min were repeated. After 3 h,  
340 37.5% of the fish were in S3a, while the others were distributed between S3b and S4  
341 stages. At the observation time of 6 h, 87.5% of the fish were in the S2 stage. In the  
342 evaluation of 12, 24 and 48 h, all animals showed normal behavior. The concentration  
343 of 100 mg L<sup>-1</sup> induced the S4 stage after 10 minutes until 2 h in all animals. In the 3 h  
344 evaluation, all the fish were in S5 [Figure 1(c)].

345

### 346 3.3.3 *Prunus myrtifolia* essential oils (PMOi e PMOl)

347

348 At 30 mg L<sup>-1</sup> of PMOi, the fish showed normal behavior in the evaluation from 0  
349 to 30 minutes. However, after 1 and 2 h, 100% of the fish were in S2 [figure 1(d)]. In  
350 the evaluation after 3 h of the experiment beginning, 50% of the animals were in S2 and  
351 the others had normal behavior. In the evaluation of 6, 12, 24 and 48 h, all animals  
352 showed normal behavior. At 100 mg L<sup>-1</sup>, only the S2 stage could be visualized after 10  
353 min until 1 h. However at 2 h, 37.5% of the animals were in S3a. In the evaluation after  
354 3 h until 48 h from the beginning of the experiment, all the animals showed normal

355 behavior, but the animals presented head hyperemia. For PMOI [Figure 1 (e)] the  
356 concentration of 100 mg L<sup>-1</sup> induced the S2 stage at 30 min from the beginning of the  
357 experiment, which was maintained in the evaluations after 1 and 2 h. From 3 h, all fish  
358 showed normal behavior, however, from the 12 h evaluation, they showed head  
359 hyperemia, in a similar way to that described for PMOi.

360

#### 361 3.3.4 *Pilocarpus pennatifolius* leaves essential oil (PPOI)

362

363 At the concentration of 25 mg L<sup>-1</sup>, all fish showed normal behavior, except from  
364 30 minutes up to 1 hour, in which the fish were in stage S2 [Figure 1(f)]. However,  
365 12.5% of the animals under evaluation reached the S5 stage at the end of the experiment  
366 (48 h). At the concentration of 50 mg L<sup>-1</sup>, after 10 and 20 minutes from the beginning of  
367 the experiment, the animals were already in S2, and 87.5% of the fish remained at this  
368 stage in the evaluations after 30 minutes and 1 h, while the other fish (12.5%) were in  
369 S3b. After 2 hours, 12.5% of the fish were in S3a, another 12.5% in the S3b stage, while  
370 the majority of the animals (75%) remained in S2. In the 3-h evaluation, 87.5% of the  
371 animals were in S2, and the others were in S3a. From the evaluation of 6 h up to the end  
372 of the experiment (48 h) all animals showed normal behavior. At 100 mg L<sup>-1</sup>, at 10 and  
373 20 minutes, the animals were in stage S2, in the following evaluation (30 min after the  
374 beginning of the experiment) stage S3b was observed, without change until the  
375 evaluation of 2 h. In the 3 h evaluation, 62.5 % of the fish were in S3a and the others in  
376 S3b, and in the 6 h evaluation, a decrease in the signs of central depression was  
377 observed in the animals, which were in the immediately superior stage, S2 and S3a,  
378 respectively. Finally, in the evaluation of 12 and 24 hours, all animals returned to stage  
379 S2, and in the last evaluation (48 hours) normal behavior was observed in all fish.

380

#### 381 3.3.5 *Casaria sylvestris* leaves essential oils (CSOI<sub>1</sub> and CSOI<sub>2</sub>)

382

383 At 80 mg L<sup>-1</sup> of CSOI<sub>1</sub> [Figure 1 (g)] the exposed fish showed normal behavior  
384 from 0 to 30 minutes. Already 1 h after the beginning of the experiment, 62.5% of the  
385 animals were in S2 and the others showed normal behavior. At the 2-hour evaluation,  
386 100% of the fish were in S2. After 3 hours from the beginning of the experiment, 50 %  
387 were in S2, 37.5 % were in S3a and 12.5 % were in S3b. In the 6 h evaluation, 87.5 %  
388 of the animals returned to the S2 stage, with only 12.5 % remaining in S3b. At 12 h, 50

389 % of the fish were in S2, 37.5 % in S3a and 12.5 % were still in S3b. In the 24-hour  
390 evaluation, 37.5 % of the fish were in the S2 stage, 12.5 % in S3b and the others  
391 showed normal behavior. In the last evaluation (48 h) 12.5% of the fish were observed  
392 in the S2 stage, the same percentage in S3a and S3b and the other fish showed normal  
393 behavior. The concentration of 90 mg L<sup>-1</sup> induced the S2 stage in 50% of the animals at  
394 10 minutes, while the remaining 50% showed normal behavior. At 20 and 30 minutes  
395 100% of the animals were in S2. One hour after the beginning of the experiment, 25%  
396 of the fish were in the S3a stage and the remaining 75% remained in S2. In the  
397 evaluations of 2, 3 and 6 hours, all were in S2. In the 12 h assessment, 12.5% were in  
398 normal condition, 12.5% in S3b and the remaining 75% in S3a. After 24 h from the  
399 beginning of the experiments, 12.5% of the fish were in normal condition, 37.5% in S2  
400 and the rest in S3b. In the last evaluation (48 h) 12.5% of the fish were observed in the  
401 S2 stage, the same percentage in S3a and S3b and the other fish showed normal  
402 behavior. The concentration of 100 mg L<sup>-1</sup> induced the S2 stage from 10 to 30 minutes  
403 in all animals. In the 1 h evaluation, 75% of the fish were in S2 stage, while the others  
404 were in S3a. Two hours after the beginning of the experiment, 37.5 % of the fish were  
405 in the S3a stage, 12.5 % in S3b and the rest in S2. The depression of the fish CNS was  
406 gradually accentuated, and 12.5% of the animals reached the S5 stage six hours after the  
407 beginning of the experiment. After 12 hours from the beginning of the experiment, 50%  
408 of the fish were in S5. At 24 hours, 25% of the remaining fish were in the S4 stage and  
409 12.5% in S5, and at 48 hours only the S5 stage was found.

410 CSO<sub>2</sub> at a concentration of 80 mg L<sup>-1</sup> induced S2 stage in the animals, from the  
411 evaluation of 20 minutes to 2 h. Three hours after the beginning of the experiments, all  
412 animals were in S3a and in the evaluation after 6 hours, all were in S3b. However, after  
413 12, 24 and 48 h, the fish showed normal behavior. At 90 mg L<sup>-1</sup>, sedation (S2) was  
414 verified 20 minutes after the beginning of the experiment and the behavior remained  
415 unchanged in the following times, until the evaluation at 2 h [**Figure 1(h)**]. In the  
416 evaluations after 3, 6 and 12 h of the beginning of the experiment, all the fish were in  
417 S3a stage. In the 24-hour assessment, all were in S3b. After 48 h from the beginning of  
418 the experiment, all the animals were in S4 stage. At 100 mg L<sup>-1</sup> at 10 minutes, all  
419 animals were in stage S2, which was also visualized in the evaluations at 20, 30 minutes  
420 and 1 h. In the evaluation after 2 h of the beginning of the experiment, all the fish were  
421 in S3a and in the evaluation of 3 h, 100% of the animals were in S3b stage. In the 6-h  
422 evaluation, the fish were in S4 stage. However, at 12 h after the beginning of the

423 experiment, 87.5% of the animals were in S5, with 12.5% of the fish remaining in S4.  
424 This minority of animals reached the S5 stage 24 h after the beginning of the  
425 experiment.

426

### 427 3.3.6 *Cordia verbenacea* leaves essential oils (CVOI)

428

429

430 From 0 to 30 minutes and 1 h, no behavioral changes were observed in animals  
431 submitted to CVOI at a concentration of 50 mg L<sup>-1</sup> [Figure 1(i)]. In the evaluation at 2, 3  
432 and 6 h, 100% of the fish were in S2. However, in the evaluation after 12 h until the last  
433 evaluation (48 h), 100% of the animals showed normal behavior. At the concentration  
434 of 80 mg L<sup>-1</sup>, after 10 minutes the animals were already in S2 and remained so until the  
435 30-minute evaluation. In the evaluation after 1 h of the beginning of the experiment, 25  
436 % of the fish were in S2, 62.5 % in S3a and 12.5 % in S3b. In the evaluation at 2 h, 12.5  
437 % of the fish were found in stage S5, and of the others, 12.5 % were in S2 and 75 % in  
438 S3a. In the 3 h evaluation, 25% of the fish were in S2, the same percentage in S3a and  
439 the remaining 50% in S3b. In the 6 h evaluation, 12.5% of the fish were in S3a, the  
440 same percentage in S3b and 75% in S2. In the evaluation 12 h after the beginning of the  
441 experiment, 100% of the fish were in the S2 stage, and in the evaluations after 24 and  
442 48 h all had returned to normal behavior. The concentration of 90 mg L<sup>-1</sup> followed the  
443 same pattern as the concentration of 80 mg L<sup>-1</sup> until 30 minutes, since 100% of the fish  
444 remained in S2 stage. In the evaluation at 1 h, 100 % of the animals were in S3a, and at  
445 2 h only 37.5 % were in S2. At 3 h, 100% of the fish were in S3b, and in the following  
446 evaluation only 25% were in S2 and 75% remained in S3b. However, in the 12 and 24 h  
447 evaluations, 100% of the fish were in S2 stage, and in the last evaluation all the fish had  
448 returned to normal behavior. At 100 mg L<sup>-1</sup>, after 10 and 20 minutes, 100% of the fish  
449 were in S2, in 30 minutes 100% of the fish were in the S3a stage and in the following  
450 evaluation 100% were in S3b, which remained in this stage until 2 and 3 h after the  
451 beginning of experiment. However, in the evaluation at 6 h, all animals regressed to the  
452 S3a stage. At 12:00 h, 62.5% were in S2, 12.5% in S3a and the remaining in S3b. In the  
453 24 h evaluation, only 25% of the fish were in S3b, while 75% were in S2. At the end of  
454 the experiment (48 h), 12.5% were in S3a, 25% in S4 and the other fish were in S2.

455

### 456 3.4 Concentration-effect curves obtained for essential oils

457

458 3.4.1. *Acmella oleracea* essential oils (AOOi e AOOl)

459

460 In the case of AOOi [**Figure 2 (a)**], the stages S2, S3a and S3b showed a pattern  
461 of decrease in the induction time to the effect, as the applied concentration increased.  
462 However, also considering the recovery time, which increases as the applied  
463 concentration increases, this study suggests a lower concentration (20 mg L<sup>-1</sup>, which is  
464 represented in the graph by log = 1.3) as the most recommended. Furthermore, at this  
465 concentration, the S4 stage was reached in an average time of approximately 153  
466 seconds, and the recovery time was the shortest detected for this oil. Another relevant  
467 aspect, which reinforces 20 mg L<sup>-1</sup> as a good concentration for silver catfish anesthesia,  
468 is the fact that it is the only one that did not cause adverse effects. Higher  
469 concentrations, as 80 and 100 mg L<sup>-1</sup>, caused excitability, spasms and convulsions.

470 AOOl at all concentrations tested showed sedative effect, but the lowest mean  
471 time to sedation was detected at the concentration 300 mg L<sup>-1</sup> (log = 2.47) [**Figure 2**  
472 **(b)**]. Furthermore, according to the generated curve, the higher the concentration, the  
473 shorter the response time. However, for the stages S3a, S3b and S4, curves were  
474 obtained with a similar pattern between them. However, at concentrations of 50 mg L<sup>-1</sup>  
475 (log = 1.69) and 100 mg L<sup>-1</sup> (log = 2.00) the curves are constant, showing a decrease in  
476 time for response in the case of higher concentrations. However, although apparently  
477 the concentration of 300 mg L<sup>-1</sup> (log = 2.47) is the best as a function of time to  
478 response, the recovery curve shows an increase in time at this concentration, that is,  
479 there is an increase in the recovery time as the concentration increases. Thus, the most  
480 suitable AOOl concentrations for use in silver catfish are 50 mg L<sup>-1</sup> (log = 1.69) or 100  
481 mg L<sup>-1</sup> (log = 2.00) and only for for sedation.

482

483 3.4.2 *Aloysia hastschbachii* leaves essential oil (AHOl)

484

485 The concentration-response curves for AHOl with regard to the induction of  
486 CNS depression show a very similar pattern [**Figure 2 (c)**]. Furthermore, the lower  
487 concentrations showed a pattern of stability between them, such as the concentration of  
488 50 mg L<sup>-1</sup> (log = 1.69) and 100 mg L<sup>-1</sup> (log = 2.00), with a decrease in induction time  
489 for the highest concentration (300 mg L<sup>-1</sup>), that is, there was a decrease in the time to  
490 reach the stages at the concentration of 300 mg L<sup>-1</sup> (log = 2.47). However, the recovery

491 time of this concentration increased and, in addition, the animals showed marked loss of  
492 mucus. Thus, among the concentrations applied, the lowest can be indicated for juvenile  
493 silver catfish, as they have a shorter recovery time and a similar pattern in time to reach  
494 the stages of anesthetic induction as  $100 \text{ mg L}^{-1}$ .

495

### 496 3.4.3 *Prunus myrtifolia* essential oils (PMOi e PMOI)

497

498 At  $100 \text{ mg L}^{-1}$  ( $\log = 2.0$ ), PMOi was able to induce only S2 stage. At a  
499 concentration of  $30 \text{ mg L}^{-1}$  ( $\log = 1.47$ ) it did not induce any of the stages and,  
500 therefore, was neither sedative nor anesthetic [**Figure 2 (d)**]. The concentration of  $300$   
501  $\text{mg L}^{-1}$  ( $\log = 2.47$ ) was the only one capable of inducing all stages. It was also observed  
502 that the S2 stage presented a pattern of constancy in time between the concentrations of  
503  $100 \text{ mg L}^{-1}$  ( $\log = 2.0$ ) and  $300 \text{ mg L}^{-1}$  ( $\log = 2.47$ ), that is, the responses were similar.  
504 Thus, it is necessary to analyze the recovery curve to indicate the best concentration to  
505 be applied to silver catfish juveniles, since there is a pattern of increase in time as a  
506 function of the increase in concentration. Thus, the results allow indicating the  
507 concentration of  $100 \text{ mg L}^{-1}$  ( $\log = 2.0$ ), and only for sedation of *R. quelen* juveniles.

508 PMOI induced all stages [**Figure 2 (e)**]. In the graph it is possible to observe that S2  
509 presented a curve indicating constant responses for all concentrations evaluated, that is,  
510 the time to induce sedation was constant. Even though the highest concentration showed  
511 an intermediate time between the previous concentrations for the S3a stage, it showed  
512 an increasing curve pattern and after the concentration of  $200 \text{ mg L}^{-1}$  ( $\log = 2.3$ ), we  
513 observed a decrease in the time for induction to the stage. This also happened for stage  
514 S3b.

515 In S4 stage, it was observed that there is a pattern in which the higher the  
516 concentration, the longer the time for the stage to be reached, that is, a greater efficiency  
517 can be verified in lower concentrations. The recovery shows a constancy of time  
518 between the concentrations of  $100 \text{ mg L}^{-1}$  ( $\log = 2.0$ ) and  $200 \text{ mg L}^{-1}$  ( $\log = 2.3$ ) and  
519 subsequently an increase in time is observed. Thus, if in addition to the time to reach the  
520 induction stage, the recovery time is considered, the best concentrations to be applied  
521 for the induction of S2 in silver catfish juvenile would be the lowest ones,  $100 \text{ mg L}^{-1}$   
522 ( $\log = 2.0$ ) and  $200 \text{ mg L}^{-1}$  ( $\log = 2.3$ ). However, for the induction of stage S4, the  
523 concentration of  $200 \text{ mg L}^{-1}$  ( $\log = 2.3$ ) would be indicated, since the concentration of  
524  $100 \text{ mg L}^{-1}$  ( $\log = 2.0$ ) did not induce S4.

525

526 3.4.4 *Pilocarpus pennatifolius* leaves essential oil (PPOI)

527

528 For PPOI, stages S3a, S3b and S4 were only induced by the highest  
529 concentration (300 mg L<sup>-1</sup> (log = 2.47)). Although the time to reach the stages was not  
530 extremely long, the recovery time for this concentration almost reached the stipulated  
531 maximum time, that is, 1800 seconds [**Figure 2 (f)**]. However, this EO proved to be  
532 effective to induce S2, a stage that was reached in the shortest time at the concentration  
533 of 50 mg L<sup>-1</sup> (log = 1.69), which also had the shortest recovery time. Thus, the curve  
534 pattern for the S2 stage showed a growth after the concentration of 50 mg L<sup>-1</sup> (log =  
535 1.69) and stability in the sequence. Recovery showed a pattern of increasing time as a  
536 function of increasing concentrations.

537

538 3.4.5. *Casearia sylvestris* leaves essential oils (CSO<sub>1</sub> e CSO<sub>2</sub>)

539

540 In the presence of EO from fresh *Casearia sylvestris* leaf (CSO<sub>1</sub>) none of the  
541 stages was reached at a concentration of 50 mg L<sup>-1</sup> (log = 1.69) [**figure 2 (g)**]. S3a was  
542 only reached at the concentration of 300 mg L<sup>-1</sup> (log = 2.47), while S3b and S4 were not  
543 reached at any of the applied concentrations. Thus, regarding the behavior of the  
544 concentration-response curve for S2 and recovery, both showed a pattern of stability  
545 from the concentration of 100 mg L<sup>-1</sup> (log = 2.0). Therefore, this is the only  
546 concentration that can be recommended, and only for sedation of silver catfish  
547 juveniles.

548

549 None of the CSO<sub>2</sub> evaluated concentrations reached the stages S3a, S3b and S4  
549 [**Figure 2 (h)**]. Thus, the concentration-response curve for S2 shows that the time for  
550 this stage to be induced is less than 300 seconds, being very similar between  
551 concentrations above 50 mg L<sup>-1</sup>, since this one in particular did not induce any of the  
552 stages of anesthesia. Furthermore, the concentration of 300 mg L<sup>-1</sup> (log= 2.47) presented  
553 an average time of 29.85 seconds to induce S2. However, although both curves present  
554 a continuity pattern regardless of the applied concentration, it can be observed that, for  
555 the highest concentration (300 mg L<sup>-1</sup>), the times were shorter.

556

557 3.4.6 *Cordia verbenacea* leaves essential oil (CVOI)

558



559 In the induction of S2, CVOI presented a pattern of decrease in its curve, in  
560 which it is possible to see that the concentration of 400 mg L<sup>-1</sup> (log = 2.6) induces this  
561 stage with an average time of 7.72 seconds. S3a was not reached at concentrations of 50  
562 mg L<sup>-1</sup> (log = 1.69) and 80 mg L<sup>-1</sup> (log = 1.9). However, at higher concentrations it  
563 showed a pattern of decreasing time as a function of increasing concentrations. But the  
564 estimated curve for this stage generated a constant line, from the concentration of 100  
565 mg L<sup>-1</sup> (log = 2.0) to 400 mg L<sup>-1</sup> (log = 2.6) [Figure 2 (i)]. The S3b stage was very  
566 similar to the previous one, also not being reached at concentrations of 50 mg L<sup>-1</sup> (log =  
567 1.69) and 80 mg L<sup>-1</sup> (log = 1.9). In this sense, a constant straight pattern was maintained  
568 even with a pattern of smooth fall in time, due to the increase in concentration. On the  
569 other hand, S4 was reached only from the concentration of 100 mg L<sup>-1</sup> (log = 2.0), even  
570 with a reduction in time due to the increase in concentrations. This pattern was not  
571 strong enough to change the pattern of the generated concentration-response curve.  
572 Thus, even though it seems that the higher the applied concentration, the better and  
573 faster the response will be, the recovery concentration-response curve shows that the  
574 higher the applied concentration, the longer the time for fish recovery to take place.  
575 Thus, at the concentration of 200 mg L<sup>-1</sup> (log = 2.3) the maximum time acceptable for  
576 the study is reached.

577

## 578 Discussion

579

### 580 4.1 *Acmella oleracea* essential oils (AOOi and AOOI)

581

582 Long-exposure tests with AOOi, at concentrations of 10, 25 and 30 mg L<sup>-1</sup>,  
583 brought all animals tested to S5. Thus, despite the results regarding the induction time  
584 for stages S2 and S4 being very satisfactory, these concentrations tested showed that  
585 they could cause more problems than benefits to juveniles. Therefore, its use for  
586 transport in the concentrations tested to long exposure over a long period must be totally  
587 discarded. Thus, with significant adverse effects (excitability, spasms and convulsions),  
588 the alternative would be to test even lower concentrations of this EO. However, this  
589 alternative could not be considered due to the extremely low yield of AOOi. As results  
590 obtained with EOs from other species, in principle, indicate that they are better suited to

591 transport experiments, we believe that the mortality of all fish suggests the exclusion of  
592 AOOi from future transport studies at the concentrations studied.

593         However, the observation of adverse effects in long-exposure experiments alone  
594 does not justify the exclusion of an essential oil/extract from research. To assess this  
595 issue, we also have to consider that synthetic drugs, such as MS-222, have also showed  
596 negative physiological effects on silver catfish (GRESSLER et al., 2014) and even so it  
597 is an anesthetic reference for aquatic organisms (WILLIAMS et al., 2009). Furthermore,  
598 benzocaine, when tested as an anesthetic in tambaquis, caused agitation in these fish  
599 (GOMES et al., 2001). Similarly, Barbas et al (2016) described a degree of agitation in  
600 tambaquis after using the waxy extract of *A. oleracea* inflorescence by immersion. This  
601 work is the first to establish sedative and anesthetic activity for the EO of *A. oleracea*  
602 inflorescences in tests with fish, especially silver catfish. Thus, studies with the EO  
603 should be in-depth, since the results could be promising for other aquatic species and  
604 even for silver catfish. However, the limiting fact in this case is the very low EO yield  
605 of this plant organ.

606         The presence of N-alkylamides such as spilanthol in this plant implies good  
607 results in the time to obtain anesthesia. However, it should be remembered that several  
608 factors are linked to the good results in anesthetic induction, such as the presence of  
609 constituents with anesthetic and analgesic potential in the collected plant, the fish  
610 species and size under study, the concentration that will be used and also the water  
611 quality parameters (GOMES et al., 2011; BOWKER et al., 2015). In addition, factors  
612 such as the part of the plant used to extract the EO, the composition of the EO, the  
613 method and even the time taken to carry out the extraction can influence the levels of  
614 toxicity of the essential oil (LEE et al., 2001). In this context, the extraction patterns  
615 were followed as recommended.

616         Thus, spilanthol (N-Isobutyl-2*E*, 6*Z*, 8*E*-decatrienamide) was found in the AOOi  
617 in 2.57%. DIAS et al. (2012) described that this compound is found mainly in  
618 inflorescences, which is in agreement with the results of this work, because in AOOI  
619 spilanthol was not detected. This compound has several proven beneficial activities,  
620 such as analgesic, anti-inflammatory and did not show significant cytotoxicity activities  
621 (WU et al., 2008; RIOS et al., 2007) when isolated from *A. oleracea* extract and tested  
622 in mice. Spilanthol is considered to have high anesthetic and analgesic potential  
623 (NOMURA et al., 2013). In this context, the time for induction of anesthesia in silver  
624 catfish was very encouraging, even though this compound was in low concentration in

625 AOOi. However, often the effects observed for an EO result from the collaborative  
626 action of several components. The major compounds found in this EO were *E*- $\beta$ -  
627 ocimene (40.12%), *Z*- $\beta$ -caryophyllene (36.52%) and  $\beta$ -phellandrene (11.25%).

628 *Acmella oleracea* leaves EO at a concentration of 300 mg L<sup>-1</sup> caused adverse  
629 effects on fish, but much weaker than the effects detected for AOOi, and with AOOI at  
630 this concentration, only high fish excitability was visualized. However, from the  
631 concentrations used in the long-exposure protocols (10, 25 and 70 mg L<sup>-1</sup>), the first one  
632 only sedated and did not cause any visible adverse effect on the fish, which, when  
633 subjected to 10 mg L<sup>-1</sup>, were all recovered at the end of the protocol. However, at  
634 concentrations of 25 and 70 mg L<sup>-1</sup>, 12.5% of the animals reached the S5 stage. Thus,  
635 we believe that the absence of marked adverse effects, as seen in AOOi, may be due to  
636 the absence of spilanthol in the composition of AOOI. Spilanthol is also recognized for  
637 having insecticidal properties (PANDEY et al., 2011; BARBOSA et al., 2016). Thus,  
638 the toxic effects that were observed could be linked to this compound. However, we  
639 cannot rule out the possibility that other compounds are causing the adverse effects.

640

#### 641 4.2 *Aloysia hastschbachii* leaves essential oil (AHOI)

642

643

644 Although AHOI caused a marked loss of mucus in induction protocols and long  
645 exposure at higher concentrations, at 20 and 50 mg L<sup>-1</sup> no adverse effects and no  
646 mortality were observed. Thus, the use of concentrations above 50 mg L<sup>-1</sup> is not  
647 recommended for silver catfish juveniles, since mucus is one of the most important  
648 protective substances associated with fish skin (SERIANI et al., 2015; ADORIAN et al.,  
649 2020). ). In addition, the EO of this plant, described as a new occurrence in the State of  
650 Rio Grande do Sul (ARAUJO et al., 2020), led all the animals exposed to immersion in  
651 100 mg L<sup>-1</sup> to stage S5, in the long-exposure protocol.

652 The genus *Aloysia* has species of high importance for animal production, such as  
653 *Aloysia triphylla*, whose EO has anesthetic and growth stimulant activity when added to  
654 the diet (DANIEL et al., 2014; ZEPPEFELD et al., 2014; 2016; 2017). ), in addition to  
655 antibacterial and antispasmodic activities (MERÉTIKA et al., 2010). Another important  
656 fact is the chemical composition of AHOI, since one of the major compounds is  
657 eucalyptol (42.78%), which is present in oils from other species with well-established  
658 importance for aquaculture, such as *Lippia alba*, which has anesthetic effect in several  
659 aquatic species (BECKER et al., 2012; DA CUNHA et al., 2010). Other components

660 were also detected in percentages above 5%, such as  $\beta$ -guayene (8.71%) and elemene  
661 (6.94%). Thus, this study demonstrated that low concentrations may be promising for  
662 use as a sedative and anesthetic in animal production.

663

#### 664 4.3 *Prunus myrtifolia* essential oils (PMOi and PMOI)

665

666

667

668 The genus *Prunus* is well known for its species having a worldwide distribution  
669 (ZHAO et al., 2018), food importance and being studied against the possible risks of  
670 metabolic syndrome (ULLAH et al., 2020). However, EOs from this species showed  
671 adverse effects on fish, although there is still no description of toxic effects in the  
672 literature for the EOs of *Prunus myrtifolia* and its constituents. The described toxic  
673 effects resulting from the presence of cyanogenic glycosides (eg amygdalin) in leaves  
674 and fruits, when ingested in the raw state and in large amounts (PANTER, 2018).  
675 However, these compounds are not present in the EO.

676 The EOs under study caused head hyperemia in juvenile silver catfish, which  
677 also showed high excitability, with an increase in the rhythm of opercular movements.  
678 In addition, the animals swam quickly in circles and tried to escape from the aquarium  
679 at the highest concentration of PMOi tested for induction (300). In addition, these  
680 effects were also observed during recovery from anesthesia. In the exposures to 100 mg  
681 L<sup>-1</sup>, the fish showed also head hyperemia in the long-exposure protocol. As the analysis  
682 of the chemical composition of PMOi indicated the presence of a single component,  
683 benzaldehyde (100%), it can be stated that the toxic effects are caused by this  
684 component. However, since some adverse effects were also observed during recovery, it  
685 is likely that one or more benzaldehyde metabolites are also toxic (SILVA et al., 2013).  
686 In the case of PMOI, two constituents are present, benzaldehyde (98.870%) and 2-*E*-  
687 hexenal, (1.13%). Thus, its chemical composition differed minimally from PMOi.  
688 However, it also had adverse effects at concentrations of 200 and 300 mg L<sup>-1</sup> and in  
689 long-exposure tests with 100 mg L<sup>-1</sup> the adverse effects already described for iPMO  
690 were repeated.

691

#### 692 4.4 *Pilocarpus pennatifolius* leaves essential oil (PPOI)

693

694 PPOI showed promising results in terms of sedation. However, there are still few  
695 studies with this EO, and one of the first reports of its chemical composition was

695 performed by Santos et al. (2004). Thus, even though the genus has species widely used  
696 in folk medicine, some of them have few studies. Thus, studies with this species in  
697 animal production need to be expanded, mainly as a sedative, also in other fish species,  
698 considering that the results of this work show that in silver catfish juveniles, PPOI  
699 proved to be safe as a sedative. Regarding its chemical composition, this EO presented  
700 three major constituents, which were 2-undecanone (57.22%), 2-tridecanone (28.39%)  
701 and Germacrene D (10.40%). Therefore, it is worth mentioning here that no adverse  
702 effects were observed in the anesthetic induction or in the long-exposure tests.  
703 However, this EO showed no anesthetic effect at its lowest concentrations, such as 50  
704 and 100 mg L<sup>-1</sup>. Thus, the results indicate that PPOI would be an excellent sedative for  
705 use in the transport of juveniles of the species under study.

706

#### 707 4.5 *Casearia sylvestris* essential oils (CSO<sub>1</sub> and CSO<sub>2</sub>)

708

709 The major constituents in CSO<sub>1</sub> were kaur-16-ene (17.35%), germacrene D  
710 (13.72%) and  $\gamma$ -himachalene (9.67%). Furthermore, CSO<sub>1</sub> did not present adverse  
711 effects during anesthetic induction, being a good indication for its use in aquaculture  
712 and in agreement with most studies regarding its good properties (ITOKAWA et al.,  
713 1990). Germacrene D (51.00%), himachala-2,4-diene (16.53%) and *E*-muurolo-3,5-  
714 diene (6.43%) were the major constituents found in CSO<sub>2</sub>. This also showed no adverse  
715 effects on anesthetic induction, but at higher concentrations, in long-exposure protocols,  
716 most animals reached S5. Thus, it is recommended to use at lower concentrations, for  
717 example, for biometrics. This plant has not yet been described as a sedative or  
718 anesthetic in fish, but its properties have already been established as a topical anesthetic  
719 in the treatment of skin and mucosal lesions and as an antiseptic (MATTOS, 2007). In  
720 addition, there are reports of its effect against tumor cells (OBERLIES et al., 2002;  
721 MAISTRO et al., 2004), as antioxidant (BORGES et al., 2000; BORGES et al., 2001),  
722 anti-inflammatory and anti-ulcer. (ESTEVES et al., 2005).

723

#### 724 4.6 *Cordia verbenacea* leaves essential oil (CVOI)

725

726 This plant species is well known and used in folk medicine, mainly due to the  
727 properties of its leaves. In this sense, the anti-inflammatory, anti-ulcer and anti-  
728 rheumatic actions are already known (SERTIÉ et al., 1988; ROLDÃO et al., 2008). In

729 addition, in Brazil there is already a well-known herbal medicine for topical use (anti-  
730 inflammatory action) produced from the EO of this plant (NIZIO et al., 2015).

731 Another important factor is that no toxic activities have been described by the  
732 use of extracts or isolated substances from the plant when applied orally or topically so  
733 far (SERTIÉ et al, 2005; BAYEUX et al., 2002; BASILE et al., 1989; CARVALHO et  
734 al., 1989; CARVALHO et al. al., 2004; OLIVEIRA et al., 1998; PASSOS et al., 2007;  
735 ROLDÃO et al., 2008). In this study, no adverse effects were observed for CVOI, both  
736 in induction experiments and in long-term exposure in silver catfish juveniles.  
737 Regarding the chemical constituents, the EO under study presented as major  
738 constituents  $\alpha$ -pinene (34.8%), followed by alloaromadendrene (9.8%) and  $\beta$ -  
739 caryophyllene (8.3%). According to previous studies, the compounds responsible for the  
740 anti-inflammatory activity of the essential oil of *C. verbenacea* are alpha-humulene and  
741 the levorotatory isomer of caryophyllene, for which different mechanisms of action in  
742 rodents have been described (FERNANDES et al., 2007). In CVOI these two  
743 compounds were also detected, with  $\alpha$ -humulene participating in percentage of 3.8%  
744 and caryophyllene in 8.3% of the oil composition. Since CVOI showed sedative effects  
745 and no toxicity at 50 mg.L<sup>-1</sup>, this concentration recommended for transport could also  
746 have additional anti-inflammatory effect.

747

## 748 **Conclusion**

749

750 Considering the efficacy and toxicity data obtained in this work, all the essential  
751 oils tested showed some level compatible of CNS depression in jundiá juveniles,  
752 considering the behavioral evaluation, but some samples showed adverse effects and/or  
753 mortality. In this context, further assessments are needed, considering other  
754 concentrations and also the implementation of protocols for the determination of  
755 cortisol and/or additional secondary stress response markers, among other assessments,  
756 such as how much the EOs can affect the cardiovascular system and the long-term  
757 juveniles' development, for example. Thus, it is worth highlighting the sedative effects  
758 of PPOI, which can be considered promising for sedation in juvenile silver catfish  
759 (*Rhamdia quelen*), especially at the lowest concentrations tested, such as 50 mg L<sup>-1</sup>. At  
760 this concentration, sedation and recovery were fast and stable, that is, within the  
761 expected ideal for fish. In addition, the concentrations (25, 50 and 100 mg L<sup>-1</sup>) used for

762 the long-exposure protocols did not induce stage S4, not causing other adverse effects  
763 and mortality. The CVOI at a concentration of 50 mg L<sup>-1</sup> was sedative and did not  
764 present adverse effects, the CSOI<sub>1</sub> and CSOI<sub>2</sub> can be used as a sedative at a  
765 concentration of 100 mg L<sup>-1</sup>, since they did not caused adverse effects or mortality in  
766 the evaluation of anesthetic induction/recovery. In addition, PMOI can be recommended  
767 for sedation (100 mg L<sup>-1</sup>) and anesthesia (200 mg L<sup>-1</sup>), and PMOi for sedation at a  
768 concentration of 100 mg L<sup>-1</sup>. The AOOI can be used at concentrations of 50 and 100 mg  
769 L<sup>-1</sup> for sedation and/or anesthesia, and that of AOOi at a concentration of 20 mg L<sup>-1</sup> as  
770 well, without adverse effects. Finelly, AHOI can be used at a concentration of 50 mg L<sup>-1</sup>  
771 for sedation and/or anesthesia.

772

### 773 **Acknowledgements**

774

775 The authors are grateful for the financial support in part to Coordenação de  
776 Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) – Financial Code 001: Carlos  
777 Herminio Magalhães Fortes received a graduate MSc fellowship from CAPES  
778 (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, Brazil) and F. T.  
779 Ferrari a technological initiation fellowship from PIBITI CNPq. B. Baldisserotto is  
780 recipients of research fellowships from CNPq.

781

### 782 **References**

783

- 784 ADAMS, T. B. The FEMA GRAS assessment of aliphatic and aromatic terpene  
785 hydrocarbons used as flavor ingredients. *Food and Chem Toxicol*, v. 49, n. 10, p.  
786 2471-2494, 2011.
- 787 ADORIAN, T. J., et al. Linseed fibers modulate the production of short-chain fatty  
788 acids and improve performance and plasma and skin mucus parameters of silver  
789 catfish (*Rhamdia quelen*). *Fish Physiology and Biochemistry*, v. 46, n. 6, p.  
790 2355-2366, 2020.
- 791 AMANI A. Y., JAMES C. M., Anesthetics in aquaculture: the emerging popularity  
792 of clove oil. *Aquaculture Asia Pacific Magazine*, p. 32-34, 2007.
- 793 ANUALPEC - Anuário da Pecuária Brasileira. Importação de peixe. São Paulo: FNP,  
794 v.1, 2018.

- 795 APPELHANS, M. S. et al. A new subfamily classification of the Citrus family  
796 (Rutaceae) based on six nuclear and plastid markers. *Taxon*, v. 70, n. 5, p. 1035-  
797 1061, 2021.
- 798 ARAUJO, G. M., et al. Fenologia de *Aloysia hatschbachii* cultivada em uma região  
799 subtropical. *Ciência e Natura* , v. 42, p. 40, 2020.
- 800 ATTAR, F. et al. Taxonomic identification in the tribe Cynoglosseae (Boraginaceae)  
801 using palynological characteristics. *Flora*, v. 249, p. 97-110, 2018.
- 802 BALDISSEROTTO, B., et al. The effects of ammonia and water hardness on the  
803 hormonal osmoregulatory and metabolic responses of the freshwater silver  
804 catfish *Rhamdia quelen*. *Aquatic Toxicology*, v. 152, p. 341-352, 2014.
- 805 BALKO, J. A.; ODA, A.; POSNER, L. P. Use of tricaine methanesulfonate or propofol  
806 for immersion euthanasia of goldfish (*Carassius auratus*). *Journal of the*  
807 *American Veterinary Medical Association*, v. 252, n. 12, p. 1555-1561, 2018.
- 808 BARBAS, L. A. L., et al. Eugenol induces body immobilization yet evoking an  
809 increased neuronal excitability in fish during short-term baths. *Aquatic*  
810 *Toxicology*, v. 231, p. 105734, 2020.
- 811 BARBAS, L. A. L., et al. Essential oil of citronella modulates electrophysiological  
812 responses in tambaqui *Colossoma macropomum*: a new anaesthetic for use in  
813 fish. *Aquaculture*, v. 479, p. 60–68, 2017.
- 814 BARBAS, L. A. L., et al. Jambu, *Spilanthes acmella* as a novel anaesthetic for juvenile  
815 tambaqui, *Colossoma macropomum*: Secondary stress responses during  
816 recovery. *Aquaculture*, v. 456, p. 70-75, 2016.
- 817 BARBOSA, A. F., et al. Spilanthol: occurrence, extraction, chemistry and biological  
818 activities. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, v. 26, n. 1, p. 128–133, 2016.
- 819 BARCELLOS, L. J. G., KREUTZ, L. C., QUEVEDO, R. M. Previous chronic stress  
820 does not alter the cortisol response to an additional acute stressor in jundiá  
821 (*Rhamdia quelen*, Quoy and Gaimard) fingerlings. *Aquaculture*, v. 253, n. 1-4, p.  
822 317-321, 2006.
- 823 BARCELLOS, L.J.G.; KREUTZ, L.C.; QUEVEDO, R.M., et al. Nursery rearing of  
824 jundiá, *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard) in cages: cage type, stocking density  
825 and stress response to confinement. *Aquaculture*, v. 232, p. 383-394, 2004.
- 826 BASILE, A. C.; SERTIE, J. A. A.; OSHIRO, T.; CALY, K.D.V.; PANIZZA, S. Topical  
827 anti-inflammatory activity and toxicity of *Cordia verbenacea*. *Fitoterapia*, v. 60,  
828 p. 260-263, 1989.



- 829 BAYEUX, M. C.; FERNANDES, A. T.; FOFLIO, M.A.; CARVALHO, J.E. Evolution  
830 of the antiedematogenic activity of artemetin isolated from *Cordia curassavica*  
831 DC. Brazilian Journal of Medical and Biological Research, v. 35, p. 1229-1232,  
832 2002.
- 833 BECKER, A. G., et al. Transportation of silver catfish. *Rhamdia quelen*, in water with  
834 eugenol and the essential oil of *Lippia alba*. Fish Physiology and Biochemistry,  
835 v. 38, n. 3, p. 789-796, 2012.
- 836 BHUVANESWARI, R.; MANICKAM, N.; BHAVAN, P. Saravana. Calamus oil as an  
837 anesthetic for *Cyprinus carpio* (Ornamental Koi). Int. J. Pure App. Biosci, v. 3,  
838 n. 1, p. 18-26, 2015.
- 839 BORGES, M. H., et al. Neutralization of proteases from *Bothrops* snake venoms by the  
840 aqueous extract from *Casearia sylvestris* (Flacourtiaceae). Toxicon, v. 39, n. 12,  
841 p. 1863-1869, 2001.
- 842 BORGES, M. H., et al. Effects of aqueous extract of *Casearia sylvestris*  
843 (Flacourtiaceae) on actions of snake and bee venoms and on activity of  
844 phospholipases A2. Comparative Biochemistry and Physiology, Part B, v. 127,  
845 n. 1, p. 21-30, 2000.
- 846 BOWKER, J. D., et al. Sedative options for fish research: a brief review with new data  
847 on sedation of warm-, cool-, and cold-water fishes and recommendations for the  
848 drug approval process. Reviews in Fish Biology and Fisheries, v. 25, p. 147–  
849 163, 2015.
- 850 CARVALHO, P. M. Jr., et al. Chemical composition and antimicrobial activity of the  
851 essential oil of *Cordia verbenacea* DC. Journal of Ethnopharmacology, v. 95,  
852 p.297-301, 2004.
- 853 DA CUNHA, M. A. Essential oil of *Lippia alba*: A new anesthetic for silver catfish,  
854 *Rhamdia quelen*. Aquaculture, v. 306, n. 1-4, p. 403–406, 2010.
- 855 DANIEL, A. P., et al. Using the essential oil of *Aloysia triphylla* (L'Her.) Britton to  
856 sedate silver catfish (*Rhamdia quelen*) during transport improved the chemical  
857 and sensory qualities of the fish during storage in ice. Journal of Food Science,  
858 v. 79, n. 6, p. S1205-S1211, 2014.
- 859 DA SILVA, S.I.; FIGUEIREDO, P. M. S.; CHAAR, J.S.; YANO, T. Cytotoxic  
860 evaluation of essential oil from *C. sylvestris* on human cancer cells and  
861 erythrocytes. Acta Amazon, v. 38, p.107-112, 2008.

- 862 DIAS, A. M. A., et al. Spilanthol from *Spilanthes acmella* flowers, leaves and stems  
863 obtained by selective supercritical carbon dioxide extraction. *The Journal of*  
864 *Supercritical Fluids*, v. 61, n. 9, p. 62-70, 2012.
- 865 ESTEVES, I., et al. Gastric anti-ulcer and anti-inflammatory activities of the essential  
866 oil from *Casearia sylvestris* Sw. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 101, n. 13, p.  
867 191-196, 2005.
- 868 EUROPEAN PHARMACOPOEIA. European directorate for the quality of medicines.  
869 Seventh ed. Strassbourg, 2010.
- 870 FAO Annuaire. Fishery and Aquaculture Statistics 2018 / FAO Annuaire. Statistiques  
871 des pêches et de l'aquaculture 2018 / FAO anuário. Estadísticas de pesca y  
872 acuicultura 2018. FAO Yearbook: Rome, Italy, 2020.
- 873 FERNANDES, E. S. et al. Anti-inflammatory effects of compounds alpha-humulene  
874 and (-)-trans-caryophyllene isolated from the essential oil of *Cordia verbenacea*.  
875 *European Journal of Pharmacology*, v. 569, n. 3, p. 228-236, 2007.
- 876 FIGUEIREDO, A. C., et al. Factors affecting secondary metabolite production in plants:  
877 volatile components and essential oils. *Flavour and Fragrance Journal*, v. 23, p.  
878 213-226, 2008.
- 879 GARLET, Q. I., et al. *Nectandra grandiflora* essential oil and its isolated  
880 sesquiterpenoids minimize anxiety-related behaviors in mice through  
881 GABAergic mechanisms. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, v. 375, p. 64-80, 2019.
- 882 GOMES, D. P., CHAVES, B. W., BECKER, A. G., BALDISSEROTTO B. Water  
883 parameters affect anaesthesia induced by eugenol in silver catfish, *Rhamdia*  
884 *quelen*. *Aquacult. Res.*, v. 42, p. 878–886, 2011.
- 885 GOMES, L. C., et al. Biologia do jundiá *Rhamdia quelen* (Teleostei, Pimelodidae).  
886 *Ciência Rural*, v. 30, n.1, p. 179-185, 2000.
- 887 GOMES, L.C., et al. Efficacy of benzocaine as anesthetic for tambaqui juveniles  
888 (*Colossoma macropomum*). *Journal of the World Aquaculture Society*, v. 32, n.  
889 4, p. 426–431, 2001.
- 890 GRESSLER, L. T., et al. Silver catfish *Rhamdia quelen* immersion anaesthesia with  
891 essential oil of *Aloysia triphylla* (L'Hérit) Britton or tricaine methanesulfonate:  
892 effect on stress response and antioxidant status. *Aquaculture Research*, v. 45, n.  
893 6, p. 1061-1072, 2014.

- 894 HERNANDEZ, T., et al. Antimicrobial activity of the essential oil and extracts of  
895 *Cordia curassavica* (Boraginaceae). *Journal of Ethnopharmacology*, v. 111, n. 1,  
896 p. 137-141, 2007.
- 897 ITOKAWA, H., et al. New Antitumor Principles, Casearins A-F, for *Casearia sylvestris*  
898 Sw. (Flacourtiaceae). *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, v. 38, n. 12,  
899 p. 3384-3388, 1990.
- 900 IOSET, J.R., et al. Antifungal and larvicidal cordiaquinones from the roots of *Cordia*  
901 *curassavica*. *Phytochemistry*, v. 53, n. 5, p. 613-617, 2000.
- 902 KEENE, J. L., et al. The efficacy of clove oil as an anaesthetic for rainbow trout,  
903 *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Aquaculture Research*, v. 29, p. 89-101,  
904 1998.
- 905 LEE, B. H., et al. Fumigant toxicity of essential oils and their constituent compounds  
906 towards the rice weevil, *Sitophilus oryzae* (L.). *Crop Protection*, v. 20, n. 4, p.  
907 317-320, 2001.
- 908 MAISTRO, E. L.; CARVALHO, J. C.; MANTOVANI, M. S. Evaluation of the  
909 genotoxic potential of the *Casearia sylvestris* extraction HTC and V79 cells by  
910 the comet assay. *Toxicology In Vitro*, v. 18, n. 1, p. 337-342, 2004.
- 911 MARTIM, J. K.P.; MARANHO, L. T.; COSTA-CASAGRANDE, T. A. Review: Role  
912 of the chemical compounds present in the essential oil and in the extract of  
913 *Cordia verbenacea* DC as an anti-inflammatory, antimicrobial and healing  
914 product. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 265, p. 113300, 2021.
- 915 MATTOS, E. S., et al. Evaluation of antinoceptive activity of *Casearia sylvestris* and  
916 possible mechanism of action. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 112, n. 2, p.1-  
917 6, 2007.
- 918 MERÉTIKA, A. H. C., et al. Local knowledge of medicinal plants in three artisanal fi  
919 shing communities (Itapoá, Southern Brazil), according to gender, age, and  
920 urbanization. *Acta Botanica Brasilica*, v. 24, n.2, p. 386-394, 2010.
- 921 MELO, N. C. de et al. Anxiolytic and Antidepressant Effects of the Hydroethanolic  
922 Extract from the Leaves of *Aloisia polystachya* (Griseb.) Moldenke: A Study on  
923 Zebrafish (*Danio rerio*). *Pharmaceuticals*, v. 12, n. 3, p. 106, 2019.
- 924 MICHIELIN, E.M.Z., et al. Chemical composition and antibacterial activity of *Cordia*  
925 *verbenacea* extracts obtained by different methods. *Bioresource technology*, v.  
926 100, n. 24, p. 6615-6623, 2009.

- 927 NIST, N. I. S. T. Mass spectral search for the NIST/EPA/NIH mass spectral library, 2.  
928 National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg, USA, p. 49, 2008.
- 929 NIST, N.I.S.T. National Institute of Standards and Technology. NIST Web chemistry  
930 book, SRD 69. Doi: <https://doi.org/10.18434/T4D303>. Acesso em setembro de  
931 2021.
- 932 NIZIO, D. A. D. C., et al. Chemical diversity of native populations of *Varronia*  
933 *curassavica* Jacq. and antifungal activity against *Lasiodiplodia theobromae*.  
934 Industrial Crops and Products, v. 76, p. 437-448, 2015.
- 935 NOMURA, E. C. O., et al. Antinociceptive effects of ethanolic extract from the flowers  
936 of *Acmella oleracea* (L.) RK Jansen in mice. Journal of Ethnopharmacology, v.  
937 150, n. 2, p. 583-589, 2013.
- 938 OBERLIES, N. H., et al.. Novel bioactive clerodane diterpenoids from the leaves and  
939 twigs of *Casearia sylvestris*. Journal of Natural Products, v. 65, n. 2, p. 95-99,  
940 2002.
- 941 OLIVEIRA, A. A. M.; ABDALLA, D. S. P.; SERTIÉ, J. A. A. Hematological  
942 evaluation of the ethanol extract of *Cordia verbenacea* leaves. Fitoterapia, v. 65,  
943 p. 387-390, 1998.
- 944 PANDEY, V.; CHOPRA, M.; AGRAWAL, V. In vitro isolation and characterization of  
945 biolarvicidal compounds from micropropagated plants of *Spilanthes acmella*.  
946 Parasitology Research, v. 108, n. 2, p. 297–304, 2011.
- 947 PANTER, K.E. Cyanogenic Glycoside–Containing Plants. Veterinary Toxicology,  
948 Elsevier, p. 935-940, 2018.
- 949 PARODI, T. V. et al. Chemical composition of the essential oil of *Aloysia triphylla*  
950 under seasonal influence and its anaesthetic activity in fish. Aquaculture  
951 Research, v. 51, p. 2515-2524, 2020.
- 952 PASSOS, G. F., et al.. Anti-inflammatory and anti-allergic properties of the essential oil  
953 and active compounds from *Cordia verbenacea*. Journal of  
954 Ethnopharmacology, v. 110, n. 2, p. 323-333, 2007.
- 955 PES, T. S., et al. Quercetin in the diet of silver catfish: Effects on antioxidant status,  
956 blood parameters and pituitary hormone expression. Aquaculture, v. 458, p. 100-  
957 106, 2016.
- 958 RIOS, M. Y.; AGUILAR-GUADARRAMA, A. B.; GUTIÉRREZ, M. D. C. Analgesic  
959 activity of affinin, an alkalamide from *Heliopsis longipes* (Compositae). Journal of  
960 Ethnopharmacology, v. 110, p. 364-367, 2007.

- 961 RODRIGUES, F.F.G., et al. Chemical composition, antibacterial and antifungal  
962 activities of essential oil from *Cordia verbenacea* DC leaves. *Pharmacognosy*  
963 *Research*, v. 4, n. 3, p. 161-165, 2012.
- 964 ROLDÃO, E. F., et al. Evaluation of the antiulcerogenic and analgesic activities of  
965 *Cordia verbenacea* DC. (Boraginaceae). *Journal of Ethnopharmacology*, v. 119,  
966 p. 94-98, 2008.
- 967 ROMÃO, N.F., SILVA, F.C., VIANA, R.N., FERRAZ, A.B.F. Phytochemical analyses  
968 and antioxidant potential of *Spilanthes acmella* flowers extract. *South American*  
969 *Journal of Basic Education, Technical and Technological*, v. 2, p. 23-32, 2015.
- 970 ROUBACH, R., DE CARVALHO, G.L., VAL, A. L. Safest level of tricaine  
971 methanesulphonate (MS-222) to induce anesthesia in juveniles of matrinxa,  
972 *Brycon cephalus*, *Acta Amazonica*, v. 31, p. 159-163, 2001.
- 973 SAHU, J., JAIN, K., JAIN, B., SAHU, R.K. A review on phytopharmacology and  
974 micropropagation of *Spilanthes acmella*. *PhOL*, v. 2, p. 1105-1110, 2011.
- 975 SANTOS, A. P.; MORENO, P. H. R. *Pilocarpus spp.*: A Survey of its chemical  
976 constituents and biological activities. *Brazilian Journal of Pharmaceutical*  
977 *Sciences*, v. 40, n. 2, p. 116-137, 2004.
- 978 SCIARRONE, D., et al. Quali-quantitative characterization of the volatile constituents  
979 in *Cordia verbenacea* D.C. essential oil exploiting advanced chromatographic  
980 approaches and nuclear magnetic resonance analysis. *Journal of*  
981 *Chromatography A*, v. 1524, p. 246-253, 2017.
- 982 SERIANI, R., et al. In vitro mucus transportability, cytogenotoxicity, and hematological  
983 changes as non-destructive physiological biomarkers in fish chronically exposed  
984 to metals. *Ecotoxicology and environmental safety*, v. 112, p. 162-168, 2015.
- 985 SERTIÉ, J. A. A.; BASILE, A. C.; PANIZZA, S.; MATIDA, A.K.; ZELNIK, R.  
986 Pharmacological Assay of *Cordia verbenacea*; Part 1. Anti-Inflammatory  
987 activity and toxicity of the crude extract of the leaves. *Planta Medica*, v. 54, p. 7-  
988 10, 1988.
- 989 SERTIÉ, J. A. A.; WOISKY, R. G.; WIEZEL, G.; RODRIGUES, M. Pharmacological  
990 assay of *Cordia verbenacea* V: oral and topical anti-inflammatory activity,  
991 analgesic effect and fetus toxicity of a crude leaf extract. *Phytomedicine*, v. 12,  
992 n. 5, p. 338-344, 2005.

- 993 SILVA, L. L., et al. Anesthetic activity of the essential oil of *Ocimum americanum* in  
994 *Rhamdia quelen* and its effects on stress parameters. Neotrop. Ichthyol., v. 13, n.  
995 4, p. 715-722, 2015.
- 996 SILVA, L. L., et al. Essential oil of *Ocimum gratissimum* L.: anesthetic effects,  
997 mechanism of action and tolerance in silver catfish, *Rhamdia quelen*.  
998 Aquaculture, v. 350, p. 91–97, 2012.
- 999 SILVA, L. L., et al. Sedative and anesthetic activities of the essential oils of *Hyptis*  
1000 *mutabilis* (Rich.) Briq. and their isolated components in silver catfish (*Rhamdia*  
1001 *quelen*). Braz. J. Med. Biol. Res., v. 46, n. 9, p. 771 – 779, 2013.
- 1002 SNEDDON, L. U. Clinical anesthesia and analgesia in fish. Journal of Exotic Pet  
1003 Medicine, v. 21, n. 1, p. 32–43, 2012.
- 1004 SOUZA, F.C., et al. *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard, 1824), submitted to a stressful  
1005 condition: effect of dietary addition of the essential oil of *Lippia alba* on  
1006 metabolismo, osmoregulation and endocrinology. Neotropical Ichthyology, v.13,  
1007 n.4, p.707-714, 2015.
- 1008 SOUZA, C. de F., et al. Essential oils as stress reducing agents in fish farming: a  
1009 review. Frontiers in Physiology, v. 10, p. 785, 2019.
- 1010 SOUZA, V. C.; LORENZI, H. Systematic botany: illustrated guide for identification of  
1011 families of native and exotic Phanerogams in Brazil, based on APG III. Nova  
1012 Odessa, Sao Paulo: Plantarum Institute, p. 768, 2012.
- 1013 TICLI, F. K., et al. Rosmarinic acid, a new snake venom phospholipase A2 inhibitor  
1014 from *Cordia verbenacea* (Boraginaceae): antiserum action potentiation and  
1015 molecular interaction. Toxicon, v. 46, n 3, p. 318-327, 2005.
- 1016 TIWARI, K.L., JADHAV, S.K., JOSHI, V. An updated review on medicinal herb genus  
1017 *Spilanthes*. J. Integr. Med., v. 9, p. 1170-1178, 2011.
- 1018 ULLAH, H., et al. An overview of the health benefits of *Prunus* species with special  
1019 reference to metabolic syndrome risk factors. Food and chemical toxicology, v.  
1020 144, p. 111574, 2020.
- 1021 WILLIAMS, T., READMAN, G., OWEN, S. Key issues concerning environmental  
1022 enrichment for laboratory-held fish species. Lab. Anim, v. 43, p. 107–120, 2009.
- 1023 WONGSAWATKUL, O. et al. Vasorelaxant and antioxidant activities of *Spilanthes*  
1024 *acmella* Murr. Int. J. Mol. Sci., v. 9, p. 2724-2744, 2008.

- 1025 WU, L. C., et al. Anti-inflammatory Effect of *Spilanthol* from *Spilanthes acmella* on  
1026 murine macrophage by down-regulating LPS-induced inflammatory mediators.  
1027 Journal of Agricultural Food Chemistry, v. 56, p. 2341–2349, 2008.
- 1028 ZAHL, I. H.; SAMUELSEN, O.; KIESSLING A. Anaesthesia of farmed fish:  
1029 Implications for welfare. Fish Physiology and Biochemistry, v. 38, n. 1, p. 201-  
1030 18, 2012.
- 1031 ZHAO, L., et al. Phylogeny and spatio-temporal diversification of *Prunus* subgenus  
1032 *Laurocerasus* section *Mesopygeum* (Rosaceae) in the Malesian region. J.  
1033 Systemat. Evol, v. 56, n. 6, p. 637–651, 2018.
- 1034 ZEPPENFELD, C. C., et al. *Aloysia triphylla* essential oil as food additive for *Rhamdia*  
1035 *quelen*—Stress and antioxidant parameters. Aquaculture Nutrition, v. 23, n. 6, p.  
1036 1362-1367, 2017.
- 1037 ZEPPENFELD, C. C., et al. Essential oil of *Aloysia triphylla* as feed additive promotes  
1038 growth of silver catfish (*Rhamdia quelen*). Aquaculture Nutrition, v. 22, n. 4, p.  
1039 933-940, 2016.
- 1040 ZEPPENFELD, C. C., et al. Physiological and biochemical responses of silver catfish,  
1041 *Rhamdia quelen*, after transport in water with essential oil of *Aloysia triphylla*  
1042 (L'Herit) Britton. Aquaculture, v. 418, p. 101-107, 2014.
- 1043 ZONG, D. et al. Plastome sequences help to resolve deep-level relationships of *Populus*  
1044 in the family Salicaceae. Frontiers in Plant Science, v. 10, p. 5, 2019.

1045 **Table 1.**

1046 Native plant species used to obtain essential oils.

Species (common name)	Family	Plant organ used	Tested sample abbreviation	Locations for obtaining plants
<i>Acmella oleracea</i> (jambu)	Asteraceae	Leaves Inflorescences	AOOI AOOi	Cultivated ( <i>ex situ</i> ) São João do Polêsine* (S 29° 40' 53"; W 53° 31' 32") <sup>3</sup>
<i>Aloysia hatschbachii</i> (unknown)	Verbenaceae	Leaves	AHOI	Cultivated ( <i>ex situ</i> ) Frederico Westphalen* (S 27° 23' 26"; W 53° 25' 43") <sup>3</sup>
<i>Prunus myrtifolia</i> (pessegueiro-do-mato)	Rosaceae	Leaves Inflorescences	PMOI PMOi	Collected ( <i>in situ</i> ) Santa Maria* (S 29° 71' 98"; W 53° 71' 93") <sup>3</sup>
<i>Pilocarpus pennatifolius</i> (jaborandi)	Rutaceae	Leaves	PPOI	Collected ( <i>in situ</i> ) Santa Maria* (S 29° 11' 52"; W 53° 16,8' 56") <sup>3</sup>
<i>Casearia sylvestris</i> (erva-de-bugre)	Salicaceae	Leaves fresh dried	CSOI <sub>1</sub> CSOI <sub>2</sub>	Collected ( <i>in situ</i> ) Santa Maria* (S 29° 71' 90"; W 53° 57' 02") <sup>3</sup>
<i>Cordia verbenacea</i> (erva-baleeira)	Boraginaceae	Leaves	CVOI	Laszlo Aromatologia Eireli (Brazil) <sup>4</sup>

1047 \* RS cities 4 Supplier company; <sup>1</sup>Oil extracted from fresh leaves; <sup>2</sup>Oil extracted from dried leaves; <sup>3</sup>11048 geographic locations of collection/harvest; <sup>4</sup>Supplier company



1049 **Table 2.**

1050 Concentrations used in long-term exposure protocols.

OEs – Sample abbreviations	Concentrations (mg L <sup>-1</sup> )
AOOi	10, 25 e 30
AOOI	10, 25 e 70
AHOI	20, 50 e 100
PMOi	30 e 100
PMOI	100
PPOI	25, 50 e 100
CSOI <sub>1</sub> and CSOI <sub>2</sub>	80, 90 e 100
CVOI	50, 80, 90 e 100

1051 AOOi (*Acmella oleracea* inflorescences EO), AOOI (*Acmella oleracea* leaves EO), AHOI (*Aloysia*  
1052 *hatschbachii* leaves EO), PMOi (*Prunus myrtifolia* inflorescences EO), PMOI (*Prunus myrtifolia* leaves  
1053 EO), PPOI (*Pilocarpus pennatifolius* leaves EO), CSOI<sub>1</sub> (*Casearia sylvestris* fresh leaves EO), CSOI<sub>2</sub>  
1054 (*Casearia sylvestris* dried leaves EO), and CVOI (*Cordia verbenacea* leaves EO). (n= 8)

1055 **Table 3.**1056 Chemical composition of the essential oils of *Acemella oleracea*, *Prunus myrtifolia*, *Aloysia hastschbachii*,  
1057 *Pilocarpus pennatifolius*, *Casearia sylvestris* and *Cordia verbenacea*.

RI <sup>a</sup> E <sup>b</sup>	RI <sup>a</sup> L <sup>c</sup>	Compound	% composition								
			AO Oi	AO Ol	AH Ol	PM Oi	PM Ol	PP Ol	CS Ol <sub>1</sub>	CS Ol <sub>2</sub>	CV Ol
851	850	2-Hexenal, ( <i>E</i> )-	-	-	-	-	1.1	-	-	-	-
929	939	$\alpha$ -pinene	-	-	1.3	-	-	-	-	-	34.8
960	960	Benzaldehyde	-	-	-	100	98.9	-	-	-	-
970	969	Sabinene, ( <i>Z</i> )-	0.7	-	1.4	-	-	-	-	-	-
974	975	$\beta$ -Pinene	1.2	-	-	-	-	-	-	-	-
989	988	$\beta$ -Myrcene	3.1	-	-	-	-	-	-	-	-
1027	1028	Limonene	-	-	1.3	-	-	-	-	-	1.3
1028	1026	$\beta$ -Phellandrene	11.2	-	-	-	-	-	-	-	-
1029	1031	Eucalyptol	-	-	42.7	-	-	-	-	-	-
1036	1037	$\beta$ -Ocimene	40.1	0.5	-	-	-	-	-	-	-
1098	1098	Sabinene hydrate	-	-	0.5	-	-	-	-	-	-
1193	1190	$\alpha$ -Terpineol	-	-	1.7	-	-	-	-	-	-
1292	1291	2-Undecanone	-	-	-	-	-	57.2	-	-	-
1301	1303	2-Undecanol	-	-	-	-	-	1.5	-	-	-
1348	1348	Silphiperfol-5-ene	-	-	-	-	-	-	0.5	-	-
1348	1349	$\alpha$ -Cubebene	-	-	-	-	-	-	0.8	1.9	-
1374	1372	$\alpha$ -Copaene	-	-	-	-	-	-	1.5	1.0	-
1388	1392	Elemene	-	-	6.9	-	-	-	-	-	2.7
1388	1387	Damascone	-	-	-	-	-	1.3	-	-	-
1417	1417	$\beta$ -Caryophyllene	36.5	69.0	4.1	-	-	-	5.1	2.8	-
1422	1429	Himachala-2,4- diene	-	-	-	-	-	-	5.8	16.5	-
1447	1453	Muurola-3,5-diene, ( <i>Z</i> )-	-	-	-	-	-	-	8.6	6.4	-
1453	1452	$\alpha$ -Humulene	0.8	1.7	-	-	-	-	0.8	-	3.8
1461	1471	Dehydro-	-	-	0.7	-	-	-	-	-	-

sesquicineole											
1479	1480	Germacrene D	3.5	25.8	0.6	-	-	10.4	13.7	50.9	-
1484	1483	$\gamma$ -Himachalene	-	-	-	-	-	-	9.6	-	-
1489	1494	Muurolo-4(14),5-diene, ( <i>E</i> )-	-	-	-	-	-	-	1.5	-	-
1489	1482	Himachalene	-	-	-	-	-	-	-	1.0	-
1492	1491	$\alpha$ -Farnesene	-	2.2	-	-	-	-	2.3	-	-
1493	1491	$\beta$ -Guaiene	-	-	8.7	-	-	-	3.7	4.2	-
1494	1494	2-Tridecanone	-	-	-	-	-	28.3	-	-	-
1504	1504	Undecenol acetate	-	-	-	-	-	0.5	-	-	-
1504	1505	$\alpha$ -Bisabolene, ( <i>Z</i> )-	-	-	2.0	-	-	-	2.8	2.1	-
1504	1506	$\alpha$ -Farnesene, ( <i>E,E</i> )-	-	-	-	-	-	-	2.3	1.6	-
1513	1515	Cubebol	-	-	-	-	-	-	2.3	0.9	-
1516	1515	Naphtalene,1,2,3,5,6,8a-hexa-hydro-4,7-dimethyl-1-(1-methylethyl)-, ( <i>Z</i> )-	-	-	-	-	-	-	2.1	1.1	-
1519	1522	Calamenene	-	-	-	-	-	-	5.5	2.2	-
1530	1534	Cadina-1,4-diene, ( <i>E</i> )-	-	-	-	-	-	-	1.9	1.4	-
1539	1531	$\gamma$ -Bisabolene, ( <i>E</i> )-	-	-	-	-	-	-	7.4	4.1	-
1556	1561	Germacrene B	-	-	-	-	-	-	0.7	-	-
1561	1560	Eremophila ketone	-	-	4.7	-	-	-	-	-	-
1568	1575	Cedrene epoxide	-	-	6.2	-	-	-	-	-	-
1574	1571	Spathulenol	-	-	2.6	-	-	0.6	-	-	2.8
1592	1590	Isoaromadendrene epoxide	-	-	1.6	-	-	-	-	-	-
1640	1641	Cedrenal	-	-	1.1	-	-	-	0.6	-	-
1643	1649	Methyl jasmonate	-	-	0.9	-	-	-	-	-	-
1653	1644	Selin-3,11-dien-6- $\alpha$ -ol	-	-	1.6	-	-	-	-	-	-
1655	1654	Cadinol	-	-	0.6	-	-	-	-	-	-

1665	1670	$\alpha$ -Caryophyllene	-	-	0.7	-	-	-	-	-	-
1678	1677	Nerolidyl acetate	-	-	0.7	-	-	-	-	-	-
1704	1703	Tridecenol acetate	-	-	1.1	-	-	-	-	-	-
1721	1718	Farnesol	-	-	5.1	-	-	-	-	-	-
1886	1844	Espilantol	2.56	-	-	-	-	-	-	-	-
1957	1949	Cembrene A	-	0.5	-	-	-	-	-	-	-
2087	2082	Kaur-16-ene	-	-	-	-	-	-	17.3	-	-
Identified components			99.6	99.7	98.8	100	100	99.8	96.8	98.2	45.4
Unidentified components			0.4	0.3	1.2	0.0	0.0	0.2	3.2	1.8	54.6

1058 **Subtitle:** <sup>a</sup>RI = Retention index; <sup>b</sup>Experimental; <sup>c</sup>Literature ADAMS (2011) and NIST (2021);

1059  
1060  
1061  
1062  
1063

**Table 4.**

Anesthetic induction and recovery times (s) in juveniles of *Rhamdia quelen* exposed to essential oils of *Acmella oleracea* inflorescences (AOOi) and leaves (AOOl), *Aloysia hatschbachii* leaves (AHOl), *Prunus myrtifolia* inflorescences (PMOi) and leaves (PMOl), *Pilocarpus pennatifolius* leaves (PPOl), *Casearia sylvestris* fresh leaves (CSOl<sub>1</sub>) and dried leaves (CSOl<sub>2</sub>) and *Cordia verbenacea* leaves (CVOl).

<b>Concentrations (mg L<sup>-1</sup>)</b>				
<b>(a)</b>	<b>AOOi</b>			
<b>Stages</b>	<b>20</b>	<b>80</b>	<b>100</b>	
S2	54.9 ± 20.7 <sup>a</sup>	16.1 ± 3.6 <sup>b</sup>	18.7 ± 6.7 <sup>b</sup>	
S3a	123.8 ± 41.7 <sup>a</sup>	42.2 ± 13.5 <sup>b</sup>	45.7 ± 12.4 <sup>b</sup>	
S3b	146.8 ± 45.2 <sup>a</sup>	81.4 ± 20.5 <sup>a,b</sup>	58.7 ± 10.4 <sup>b</sup>	
S4	153.5 ± 48.2 <sup>a</sup>	97 ± 24.6 <sup>a</sup>	159.8 ± 56.4 <sup>a</sup>	
Recovery	954.6 ± 483.7 <sup>a</sup>	1293 ± 376 <sup>a</sup>	-*	
<b>(b)</b>	<b>AOOl</b>			
<b>Stages</b>	<b>50</b>	<b>100</b>	<b>200</b>	<b>300</b>
S2	224 ± 95.4 <sup>a</sup>	73.7 ± 49 <sup>a,b</sup>	37.4 ± 19.5 <sup>a,b,c</sup>	14 ± 7.6 <sup>c</sup>
S3a	320 ± 218.6 <sup>a,b</sup>	394 ± 142.1 <sup>a</sup>	134.6 ± 40.1 <sup>a,b,c</sup>	62.4 ± 19.7 <sup>b,c</sup>
S3b	263.9 ± 234.7 <sup>a,b</sup>	401.1 ± 141.4 <sup>a</sup>	188.8 ± 55.5 <sup>a,b,c</sup>	86.6 ± 26.6 <sup>b,c</sup>
S4	211 ± 240.8 <sup>a,b</sup>	414 ± 135.5 <sup>a</sup>	196.7 ± 57.2 <sup>a,b,c</sup>	102.9 ± 46.5 <sup>b,c</sup>
Recovery	1172 ± 394.1 <sup>a</sup>	1147 ± 402.5 <sup>a</sup>	1525 ± 233.2 <sup>a</sup>	1609 ± 208.5 <sup>a</sup>
<b>(c)</b>	<b>AHOl</b>			
<b>Stages</b>	<b>50</b>	<b>100</b>	<b>300</b>	
S2	91.7 ± 72.4 <sup>a</sup>	167.7 ± 120 <sup>a</sup>	64.5 ± 15 <sup>a</sup>	
S3a	314.2 ± 140.1 <sup>a,b</sup>	450 ± 160.5 <sup>a</sup>	113.8 ± 32.2 <sup>b,c</sup>	
S3b	530.7 ± 116.8 <sup>a,b</sup>	679.1 ± 174 <sup>a</sup>	235.9 ± 39.2 <sup>b,c</sup>	
S4	596.9 ± 232.4 <sup>a</sup>	795.1 ± 181.5 <sup>a</sup>	449.9 ± 157.7 <sup>a</sup>	
Recovery	813.1 ± 169.5 <sup>a</sup>	933.4 ± 527.9 <sup>a</sup>	1599 ± 292 <sup>a</sup>	
<b>(d)</b>	<b>PMOi</b>			
<b>Stages</b>	<b>100</b>	<b>300</b>		
S2	32.7 ± 11.1 <sup>a</sup>	32 ± 7.5 <sup>a</sup>		
S3a	-	104.6 ± 26.3		
S3b	-	275.3 ± 93.9		

S4	-	350.7 ± 105.3	
Recovery	124.6 ± 92.4 <sup>a</sup>	359.7 ± 79.6 <sup>a</sup>	
<b>(e) PMOI</b>			
<b>Stages</b>	<b>100</b>	<b>200</b>	<b>300</b>
S2	39.4 ± 9.9 <sup>a</sup>	40 ± 20.3 <sup>a</sup>	39.5 ± 13.2 <sup>a</sup>
S3a	-	291.8 ± 220.3 <sup>a</sup>	82.7 ± 21 <sup>a</sup>
S3b	-	398.6 ± 605.5 <sup>a</sup>	175.4 ± 54.3 <sup>a</sup>
S4	-	195.5 ± 410.2 <sup>a</sup>	287.5 ± 35.7 <sup>a</sup>
Recovery	107.7 ± 90.9 <sup>a</sup>	116.9 ± 95.35 <sup>a</sup>	271.3 ± 158 <sup>a</sup>
<b>(f) PPOI</b>			
<b>Stages</b>	<b>50</b>	<b>100</b>	<b>300</b>
S2	116.7 ± 35.8 <sup>a</sup>	565.1 ± 283.4 <sup>a</sup>	262.7 ± 92.3 <sup>a</sup>
S3a	-	-	374.4 ± 126.3
S3b	-	-	706.9 ± 283.4
S4	-	-	965.3 ± 500.6
Recovery	410.6 ± 579.6 <sup>b</sup>	801.5 ± 630.9 <sup>b</sup>	1747 ± 137.2 <sup>a</sup>
<b>(g) CSOI<sub>1</sub></b>			
<b>Stages</b>	<b>100</b>	<b>200</b>	<b>300</b>
S2	324 ± 287 <sup>a</sup>	311.6 ± 128.1 <sup>a,b</sup>	57.6 ± 26.6 <sup>b</sup>
S3a	-	-	1384 ± 559.8
S3b	-	-	-
S4	-	-	-
Recovery	655.2 ± 563.7 <sup>a</sup>	780.9 ± 347.1 <sup>a</sup>	721.1 ± 727.1 <sup>a</sup>
<b>(h) CSOI<sub>2</sub></b>			
<b>Stages</b>	<b>100</b>	<b>200</b>	<b>300</b>
S2	227.8 ± 12.7 <sup>a</sup>	208.6 ± 16.24 <sup>a,b</sup>	29.8 ± 16.2 <sup>b</sup>
S3a	-	-	-
S3b	-	-	-
S4	-	-	-

Recovery	$667.2 \pm 60.7^a$		$668.8 \pm 77.7^a$		$482.7 \pm 512.6^a$	
(i)	CVOI					
Stages	50	80	100	200	300	400
S2	$746 \pm 25.9^a$	$711 \pm 77.2^a$	$78.5 \pm 7.7^{a,b}$	$23.2 \pm 5.3^{b,c}$	$21.3 \pm 2.9^{b,c}$	$7.7 \pm 1.4^c$
S3a	-	-	$436 \pm 88.5^a$	$347 \pm 44.8^a$	$310 \pm 32.4^a$	$122 \pm 25.6^a$
S3b	-	-	$935 \pm 608.1^a$	$627 \pm 51.3^a$	$695 \pm 78.6^a$	$474 \pm 101^a$
S4	-	-	-	$1340 \pm 118^a$	$1287 \pm 36^a$	$711 \pm 134^a$
Recovery	$968.9 \pm 19^a$	$1169 \pm 130^a$	-*	-*	-*	-*

1064 Mean  $\pm$  standard deviation. Different letters on the same line indicate a significant difference between  
1065 concentrations (n=8); (-) indicates stage not reached; (-\*): indicates no recovery in the maximum  
1066 observation time (30 min).

1067

**Figure captions**

1068

1069

1070

1071

1072

1073

1074

1075

1076

1077

1078

1079

1080

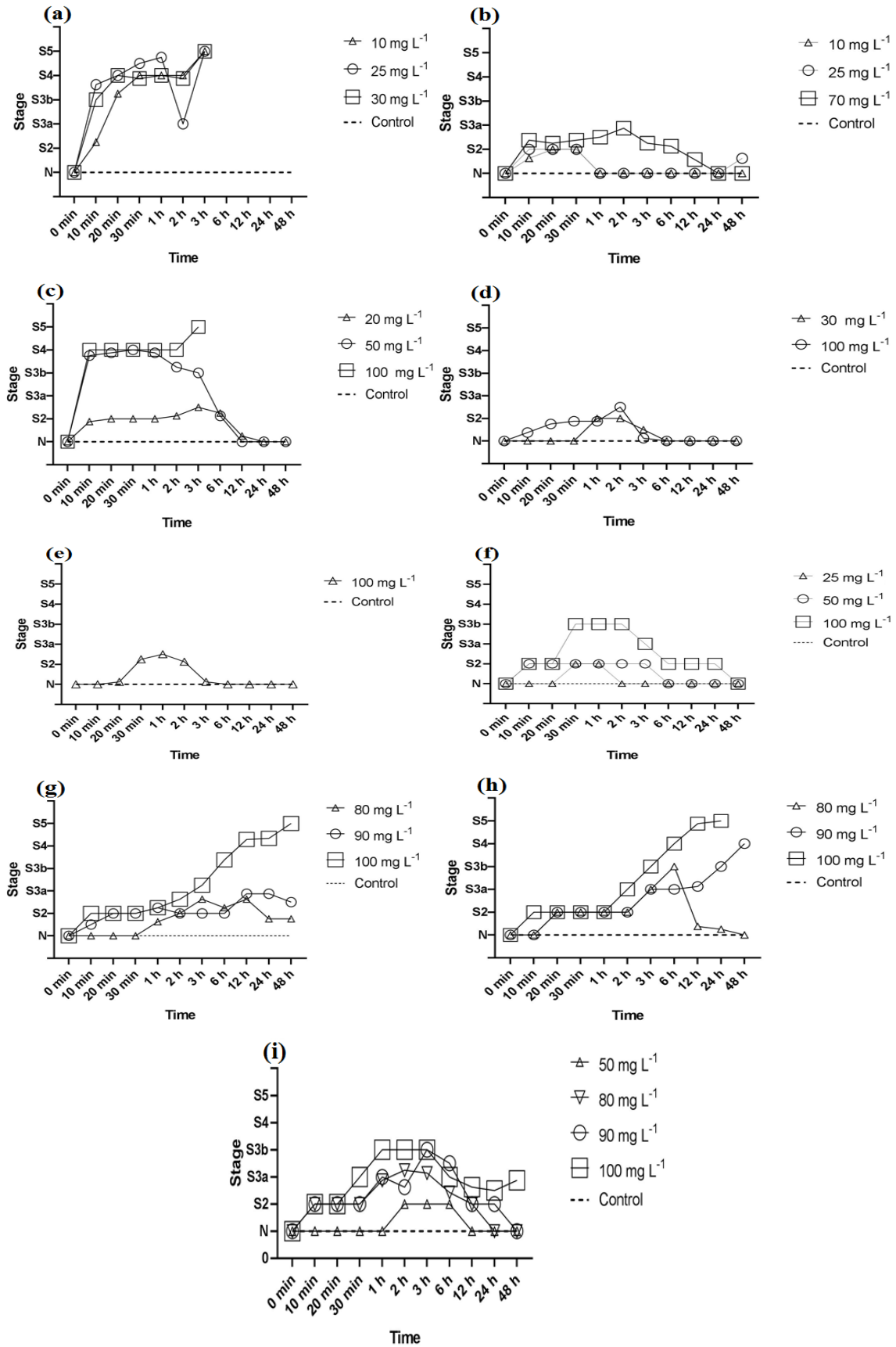
1081

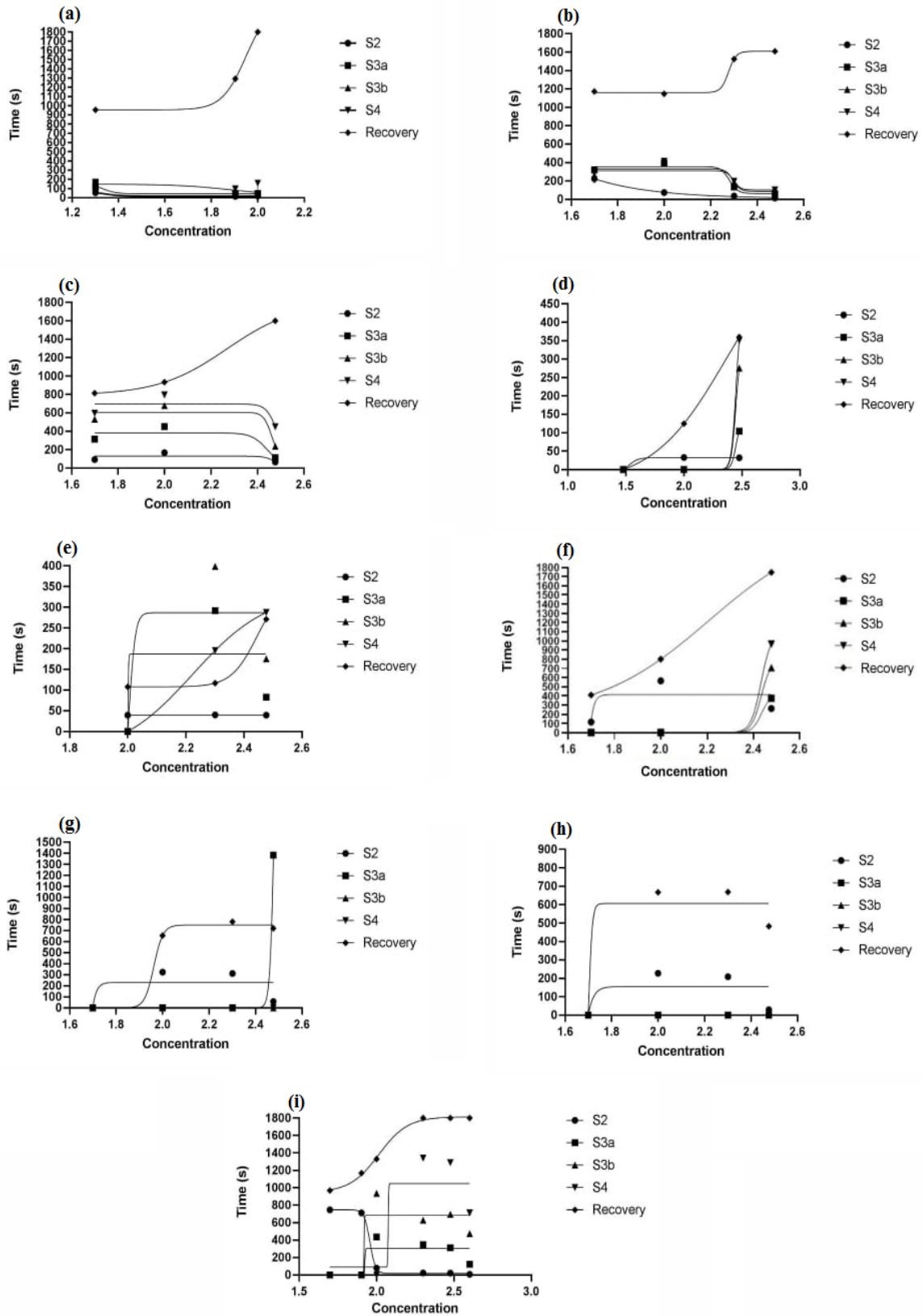
**Figure 1.** Stages of anesthesia observed over time in silver catfish (*Rhamdia quelen*) exposed to essential oil from inflorescences (a) and leaves (b) of *Acmella oleracea*, leaves (c) of *Aloysia hatschbachii*, inflorescences (d) and leaves (e) of *Prunus myrtifolia*, leaves (f) of *Pilocarpus pennatifolius*, fresh leaves (g) and dried leaves (h) of *Casearia sylvestris* and leaves (i) of *Cordia verbenacea*. N - Normal behavior, S2 - sedation, S3a - partial loss of balance, S3b - total loss of balance, S4 - anesthesia and S5 - bulbar collapse. (n=8)

**Figure 2.** Graphic representation for the studied concentrations of AOOi (a), AOOl (b), AHOl (c), PMOi (d), PMOl (e), PPOl (f), CSOI1 (g), CSOI2 (h) and CVOl (i). The graphs were constructed from the equation described in item 2.6. Thus, the following results presented in the graph were obtained. The concentrations are represented in log form, being 20 mg L<sup>-1</sup> (log = 1.3); 30 mg L<sup>-1</sup> (log = 1.47); 50 mg L<sup>-1</sup> (log = 1.69); 80 mg L<sup>-1</sup> (log = 1.9); 100 mg L<sup>-1</sup> (log = 2.00); 200 mg L<sup>-1</sup> (log = 2.3); 300 mg L<sup>-1</sup> (log = 2.47) and 400 mg L<sup>-1</sup> (log = 2.6).



1082 **Figure 1.**



1083 **Figure 2.**

## 6. CONCLUSÃO

Considerando os dados de eficácia e toxicidade obtidos neste trabalho, todos os óleos essenciais testados apresentaram algum nível compatível à depressão do SNC em juvenis de jundiá, considerando a avaliação comportamental, mas algumas amostras apresentaram efeitos adversos e/ou mortalidade. Nesse contexto, são necessárias novas avaliações, considerando outras concentrações e também a implementação de protocolos para determinação dos níveis de cortisol e/ou marcadores secundários de resposta ao estresse, entre outras avaliações, como o quanto os OEs podem afetar o sistema cardiovascular e o desenvolvimento dos juvenis em longo prazo, por exemplo. Assim, vale destacar os efeitos sedativos do óleo essencial de folhas de *Pilocarpus pennatifolius*, que pode ser considerado promissor para sedação em juvenis de jundiás (*Rhamdia quelen*), principalmente nas menores concentrações testadas, como 50 mg L<sup>-1</sup>. Nessa concentração, a sedação e a recuperação foram rápidas e estáveis, ou seja, dentro do ideal esperado para peixes. Além disso, as concentrações de 25, 50 e 100 mg L<sup>-1</sup>, utilizadas para os protocolos de longa exposição, não induziram o estágio S4, não causando outros efeitos adversos e mortalidade. O CVOI, na concentração de 50 mg L<sup>-1</sup>, foi sedativo e não apresentou efeitos adversos, o CSOI<sub>1</sub> e CSOI<sub>2</sub> podem ser usados como sedativos na concentração de 100 mg L<sup>-1</sup>, pois não apresentaram efeitos adversos nem mortalidade na avaliação de indução anestésica/recuperação. Ademais, PMOI pode ser recomendado para sedação (100 mg L<sup>-1</sup>) e anestesia (200 mg L<sup>-1</sup>) e o PMOi para sedação na concentração de 100 mg L<sup>-1</sup>. O AOOI pode ser usado nas concentrações de 50 e 100 mg L<sup>-1</sup> para sedação e/ ou anestesia e o AOOi na concentração de 20 mg L<sup>-1</sup> também, uma vez que não apresentou efeitos adversos. Finalmente, o AHOI, na concentração de 50 mg L<sup>-1</sup>, foi adequado para sedação e/ ou anestesia.

## REFERÊNCIAS

ABEYSINGHE, D.C, WIJERATHNE, S.M.N.K., DHARMADASA, R.M. Secondary Metabolites Contents and Antioxidant Capacities of *Acmella Oleraceae* Grown under Different Growing Systems. **W. J. of Agricultural Research**, v. 2, n. 4, p. 163-167, 2014.

ABINPET - Equipe de comunicação. Associação Brasileira da Indústria de Produtos para Animais de Estimação. **Agro ANALYSIS**, v. 35, n. 1, p. 35-40, 2015.

ACHIKA, J.; ARTHUR, D.; GERALD, I.; ADEDAYO, A. A Review on the Phytoconstituents and Related Medicinal Properties of Plants in the Asteraceae Family. **IOSR J. Appl. Chem.**, v. 7, p. 1-8, 2014.

ACKERMAN P.A., et al. Guidelines on: The care and use of fish in research, teaching and testing, **Canadian Council on Animal Care**, Ottawa CA, 2005, Available at: <http://www.ccac.ca/Documents/Standards/Guidelines/Fish.pdf>.

ADAMS, T. B. The FEMA GRAS assessment of aliphatic and aromatic terpene hydrocarbons used as flavor ingredients. **Food and Chem Toxicol**, v. 49, n. 10, p. 2471-2494, 2011.

ADORIAN, T. J. et al. Linseed fibers modulate the production of short-chain fatty acids and improve performance and plasma and skin mucus parameters of silver catfish (*Rhamdia quelen*). **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 46, n. 6, p. 2355-2366, 2020.

AFONSO, M. S., SANT'ANA, L. S., MANCINI-FILHO, J. Interaction between natural antioxidants and reactive oxygen species in cardiovascular diseases: perspectives to rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) contribution. **Nutrire: Journal of the Brazilian Society of Food and Nutrition**, v. 35, n. 1, p. 129-148, 2010.

AHMAD, I., BEG, A. Z. Antimicrobial and phytochemical studies on 45 Indian medicinal plants against multidrug resistant human pathogens. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 74, p. 113-23, 2001.

ALMEIDA R. N., MOTTA, S. C., DE BRITO, F. C., CATALANI, B., LEITE, J. R. Anxiolytic-like effects of rose oil inhalation on the elevated plus-maze test in rats. **Pharmacol. Biochem. Behav.**, v. 77, n. 2, p. 361-364, 2004.

ALVES, M. M. M. et al. Essential Oil of *Pilocarpus Microphyllus* Stapf. Against Promastigotes Forms of *Leishmania infantum*. **J Soil Plant Biol**, v. 1, p. 24-27, 2018.

- AMANI A. Y., JAMES C. M., 2007 Anesthetics in aquaculture: the emerging popularity of clove oil. **Aquaculture Asia Pacific Magazine**, p. 32-34, 2007.
- ANDENBERG, A. A., et al. **Compositae**. In: J.W. Kadereit & C. Jeffrey (eds.). Flowering Plants Eudicots Asterales, v.3. VIII. The Families and Genera of Vascular Plants, K. Kubitzki (ed.). Springer Verlag, p. 61-588, 2007.
- ANUALPEC - **Anuário da Pecuária Brasileira**. Importação de peixe. São Paulo: FNP, v.1, 2018.
- APOLINÁRIO, R. et al. Insecticidal activity of *Pilocarpus spicatus* Saint-Hilaire (Rutaceae) essential oil against the crop pest *Dysdercus peruvianus* (Guérin-Méneville, 1831) and *Oncopeltus fasciatus* (Dallas, 1852). **Research, Society and Development**, v. 9, n. 11, p. 1-31, 2020.
- APPELHANS, M. S. et al. A new subfamily classification of the Citrus family (Rutaceae) based on six nuclear and plastid markers. **Taxon**, v. 70, n. 5, p. 1035-1061, 2021.
- ARAÚJO, G. M., et al. Fenologia de *Aloysia hatschbachii* cultivada em uma região subtropical. **Ciência e Natura**, v. 42, p. 40, 2020.
- ARREBOLA, M. R. B. et al. Estudo dos componentes lipídicos das sementes de três espécies do gênero *Cordia* L. (Boraginaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 14, p. 57-65, 2004.
- ASGARPAHAH J. Propriedades fitoquímicas e farmacológicas de *Ruta graveolens* L. **J. Med. Plant Res.**, v.6, p. 3942 – 3949, 2012.
- ASHLEY P.J., SNEDDON L.U., MCCROHAN C.R. Nociception in fish: Stimulus-response properties of receptors on the head of trout *Oncorhynchus mykiss*. **Brain Res.**, v. 1166, p. 47-54, 2007.
- ATTAR, F. et al. Taxonomic identification in the tribe Cynoglosseae (Boraginaceae) using palynological characteristics. **Flora**, v. 249, p. 97-110, 2018.
- AZIZ S. A., et al. Cumarinas de *Murraya paniculata* (Rutaceae) (Koumarin dari pada *Murraya Paniculata* (rutaceae)), **Malaysian Journal of Analytical Sciences**, v. 14, n. 1, p. 1–5, 2010.
- BALDISSEROTTO, B. et al. The effects of ammonia and water hardness on the hormonal osmoregulatory and metabolic responses of the freshwater silver catfish *Rhamdia quelen*. **Aquatic Toxicology**, v. 152, p. 341-352, 2014.
- BALDISSEROTTO, B.; RADUNZ NETO, J. **Criação de jundiá**. Editora da UFSM, p. 67-72, 2004.
- BALKO, J. A.; ODA, A.; POSNER, L. P. Use of tricaine methanesulfonate or propofol for immersion euthanasia of goldfish (*Carassius auratus*). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 252, n. 12, p. 1555-1561, 2018.

BANDEIRA JUNIOR, G. et al. Antibacterial potential of phytochemicals alone or in combination with antimicrobials against fish pathogenic bacteria. **Journal of Applied Microbiology**, v. 125, n. 3, p. 655-665, 2018.

BANDEIRA JUNIOR, G. et al. Combined effect of florfenicol with linalool via bath in combating *Aeromonas hydrophila* infection in silver catfish (*Rhamdia quelen*). **Aquaculture**, v. 545, p. 737247, 2021.

BARBAS, L. A. L. et al. Properties of two plant extractives as anaesthetics and antioxidants for juvenile tambaqui *Colossoma macropomum*. **Aquaculture**, v. 469, p. 79–87, 2017a.

BARBAS, L. A. L., et al. Essential oil of citronella modulates electrophysiological responses in tambaqui *Colossoma macropomum*: a new anaesthetic for use in fish. **Aquaculture**, v. 479, p. 60–68, 2017.

BARBAS, L. A. L., et al. Eugenol induces body immobilization yet evoking an increased neuronal excitability in fish during short-term baths. **Aquatic Toxicology**, v. 231, p. 105734, 2020.

BARBAS, L. A. L., et al. Jambu, *Spilanthes acmella* as a novel anaesthetic for juvenile tambaqui, *Colossoma macropomum*: Secondary stress responses during recovery. **Aquaculture**, v. 456, p. 70-75, 2016.

BARBOSA, A. F., et al. Spilanthol: occurrence, extraction, chemistry and biological activities. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 26, n. 1, p. 128–133, 2016.

BARBOSA, A. F., SILVA, K. C., DE OLIVEIRA, M. C., CARVALHO, M. G. D., & SRUR, A. U. Effects of *Acmella oleracea* methanolic extract and fractions on the tyrosinase enzyme. **Rev. Bras. Farmacogn.**, v. 26, p. 321-325, 2016a.

BARCELLOS, L. J. G., KREUTZ, L. C., QUEVEDO, R. M. Previous chronic stress does not alter the cortisol response to an additional acute stressor in jundiá (*Rhamdia quelen*, Quoy and Gaimard) fingerlings. **Aquaculture**, v. 253, n. 1-4, p. 317-321, 2006.

BARCELLOS, L.J.G.; KREUTZ, L.C.; QUEVEDO, R.M. et al. Nursery rearing of jundiá, *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard) in cages: cage type, stocking density and stress response to confinement. **Aquaculture**, v. 232, p.383-394, 2004.

BARTON, B. A. Stress in finfish: A diversity of responses with particular reference to changes in circulating corticosteroids. **Integrative and Comparative Biology**, v. 42, p. 517-525, 2002.

BAUTISTA, H. P. **Sistemática e filogenia de um gênero endêmico do Brasil: *Acritopappus* R. M. King & H. Rob. (Asteraceae, Eupatorieae)**. Santiago de Compostela: Universidad de Santiago de Compostela, Servicio de Publicaciones e Intercambio Científico. Tese, 1 CD-ROM, 2000.

- BAYEUX, M. C.; FERNANDES, A. T.; FOFLIO, M.A.; CARVALHO, J. E. Evolution of the antiedematogenic activity of artemetin isolated from *Cordia curassavica* DC. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 35, p. 1229-1232, 2002.
- BHUVANESWARI, R.; MANICKAM, N.; BHAVAN, P. Saravana. Calamus oil as an anesthetic for *Cyprinus carpio* (Ornamental Koi). **Int. J. Pure App. Biosci**, v. 3, n. 1, p. 18-26, 2015.
- BECKER, A. G. et al. Transportation of silver catfish. *Rhamdia quelen*, in water with eugenol and the essential oil of *Lippia alba*. **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 38, n. 3, p. 789-796, 2012.
- BENELLI, G. et al. Insecticidal efficacy of the essential oil of jambú (*Acmella oleracea* (L.) RK Jansen) cultivated in central Italy against filariasis mosquito vectors, houseflies and moth pests. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 229, p. 272-279, 2019.
- BENOVIT, S. C. et al. Anesthetic activity and bio-guided fractionation of the essential oil of *Aloysia gratissima* (Gillies & Hook.) Tronc. in silver catfish *Rhamdia quelen*. **Annals of the Brazilian Academy of Sciences**, v. 87, n. 3, p. 1675-1689, 2015.
- BERNARDI, M. M., MORAES, R. C., VAROLI, F. M. F., OSTI, S. C. Ecotoxicologia. In: SPINOSA, H. de S.; GÓMIK, S. L.; PALERMO-NETO, J. **Toxicologia aplicada à medicina veterinária**. São Paulo: Manole, p. 942, 2008.
- BIANCHINI, A. E. et al. Monoterpenoids (thymol, carvacrol and S-(+)-linalool) with anesthetic activity in silver catfish (*Rhamdia quelen*): evaluation of acetylcholinesterase and GABAergic activity. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 50, p. e6346, 2017.
- BIANCHINI, A. E. et al. Tissue distribution and elimination of S-(+)-linalool in silver catfish (*Rhamdia quelen*). **Aquaculture**, v. 529, p. 735637, 2020.
- BISI A. et al. Coumarin derivatives as potential antitumor agents: Growth inhibition, apoptosis induction and multidrug resistance reverting activity. **Eur. J. Med. Chem.**, v. 127, p. 577 – 585, 2017.
- BORGES, M. H., et al. Effects of aqueous extract of *Casearia sylvestris* (Flacourtiaceae) on actions of snake and bee venoms and on activity of phospholipases A2. **Comparative Biochemistry and Physiology**, Part B, v. 127, n. 1, p. 21-30, 2000.
- BORGES, M. H., et al. Neutralization of proteases from *Bothrops* snake venoms by the aqueous extract from *Casearia sylvestris* (Flacourtiaceae). **Toxicon**, v. 39, n. 12, p. 1863-1869, 2001.
- BOWKER, J. D., et al. Sedative options for fish research: a brief review with new data on sedation of warm-, cool-, and cold-water fishes and recommendations for the drug approval process. **Reviews in Fish Biology and Fisheries**, v. 25, p. 147–163, 2015.

- BRAAT, S.; KOOY, R. F. The GABA<sub>A</sub> receptor a therapeutic target for neurodevelopmental disorders. **Neuron**, v. 83, n. 5, p. 1097-4199, 2015.
- BRAGA, T. P.; REBÊLO, G. H. Conhecimento tradicional dos pescadores do baixo rio Juruá: aspectos relacionados aos hábitos alimentares dos peixes da região. **Repositório do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA)**, v. 39, p. 659-665, 2014.
- BRAITHWAITE, V. A., HUNTINGFORD, F. A. Fish and welfare: Do fish have the capacity for pain perception and suffering? **Animal Welfare**, v. 13, Suppl., S87-92, 2004.
- BRANDÃO, D.C. et al. Estudo fase III, duplo cego, aleatório, comparativo para avaliar a eficácia e tolerabilidade da *Cordia verbenacea* e do diclofenaco dietilamônio, em pacientes portadores de contusões, entorses, traumas e lesões musculares, com início inferior a 24h. **Revista Brasileira de Medicina**, v. 63, n. 8, p. 408-415, 2006.
- BRASIL. Instrução Normativa Interministerial nº. 28, de 8 de junho de 2011. Estabelece normas técnicas para os sistemas orgânicos de produção aquícola a serem seguidos por toda pessoa física ou jurídica responsável por unidades de produção em conversão ou por sistemas orgânicos de produção. **Diário oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 09 jun. 2011. Seção 1, p. 4-09.
- BYNG, J. W., CHASE, M. W., CHRISTENHUSZ, M. J. M., FAY, M. F., JUDD, W. S., MABBERLEY, D. J., et al. An update of the angiosperm phylogeny group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. **Bot. J. Linn. Soc.**, v. 181, p. 1–21, 2016.
- CARBONE, L. Cap. 11 - Euthanasia and Laboratory Animal Welfare. In: TURNER, K. B. V. (Ed.). **Laboratory Animal Welfare**. Boston: Academic Press, p.157-169. ISBN 978-0-12-385103-1, 2014.
- CARDOSO, P. H. et al. An update of the Verbenaceae genera and species numbers. **Plant Ecology and Evolution**, v. 154, n. 1, p. 80-86, 2021.
- CARNEIRO, P. C. F. Jundiá: Um grande peixe para a região Sul. **Panorama de Aquicultura**, v. 12, n. 69, p. 41-46, 2002.
- CAROFF, D. A. et al. The relationship between sedatives, sedative strategy, and healthcare-associated infection: A systematic review. **Infection Control and Hospital Epidemiology**, v. 37, n. 10, p. 1234-1242, 2016.
- CARVALHO, P. E. R. Técnicas de recuperação e manejo de áreas degradadas. **Embrapa Florestas-Capítulo em livro científico (ALICE)**, 2000.
- CARVALHO, P. M. Jr., et al. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Cordia verbenacea* DC. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 95, p.297-301, 2004.
- CAVALHEIRO, L.; RANGA, N. T.; FURLAN, A. Tournefortia L. (Boraginaceae): espécies do Brasil extra-amazônico. **Hoehnea**, São Paulo, v. 38, n. 2, p. 221-242, 2011.



CHACÓN, J. et al. The borage family (Boraginaceae s. str.): A revised infrafamilial classification based on new phylogenetic evidence, with emphasis on the placement of some enigmatic genera. **Taxon**, v. 65, n. 3, p. 523-546, 2016.

CHASE, M. K. et al. When in doubt, put it in Flacourtiaceae: a molecular phylogenetic analysis based on plastid rbcL DNA sequence. **Kew Bull.**, v. 57, p. 141–181, 2002.

CHO J.Y.; HWANG T.L.; CHANG T.H.; LIM Y.P.; SUNG P.J.; LEE T.H.; CHEN J.J. New coumarins and anti-inflammatory constituents from *Zanthoxylum avicennae*. **Food Chem.**, v.135, p. 17-23, 2012.

COLDEBELLA, I.J.; RADÜNZ NETO, J. Farelo de soja na alimentação de alevinos de jundiá (*Rhamdia quelen*). **Ciência Rural**, v. 32, p. 499– 503, 2002.

COYLE, S.D.; DURBOROW, R.M.; TIDWELL, J. H. Anesthetics in aquaculture. **Texas: Southern Regional Aquaculture Center (SRAC)**, publication 3900, 2004.

CRESPAM, P. C. Estudos na família Verbenaceae no Rio Grande do Sul, Brasil. **Dissertação (Mestrado em Botânica)** - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, p.115, 2010.

CUNHA, M. A. Anestesia de jundiás (*Rhamdia quelen*) expostos a substâncias isoladas de plantas. **Dissertação (Mestrado em Zootecnia)**, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 67f., 2007.

CUNHA, M. A. et al. Anesthetic induction and recovery of *Hippocampus reidi* exposed to the essential oil of *Lippia alba*. **Neotropical Ichthyology**, v. 9, n. 3, p. 683-688, 2011.

CUNHA, M. A. et al. Essential oil of *Lippia alba*: a new anesthetic for silver catfish, *Rhamdia quelen*. **Aquaculture**, v. 306, n. 1-4, p. 403-406, 2010.

DA CUNHA, J. A. et al. The Essential Oil of *Hyptis mutabilis* in *Ichthyophthirius multifiliis* Infection and its Effect on Hematological, Biochemical, and Immunological Parameters in Silver Catfish, *Rhamdia quelen*. **The Journal of Parasitology**, v. 103, n. 6, p. 778-785, 2017.

DA SILVA, S.I.; FIGUEIREDO, P. M. S.; CHAAR, J.S.; YANO, T. Cytotoxic evaluation of essential oil from *C. sylvestris* on human cancer cells and erythrocytes. **Acta Amazon**, v. 38, p.107-112, 2008.

DA SILVEIRA, U. S.; LOGATO, P. V. R.; PONTES, E. Fatores estressantes de peixes. **Revista Eletrônica Nutritime**, v. 6, n. 4, p. 1001-1017, 2009.

DANIEL, A. P., et al. Using the essential oil of *Aloysia triphylla* (L'Her.) Britton to sedate silver catfish (*Rhamdia quelen*) during transport improved the chemical and sensory qualities of the fish during storage in ice. **Journal of Food Science**, v. 79, n. 6, p. S1205-S1211, 2014.

DE ARAUJO SOUSA, P. S. et al. Prospecção científica e tecnológica de *Pilocarpus microphyllus* e do alcaloide epiisopiloturina com ênfase na atividade antileishmania. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 7, p. 1-17, 2021.

DE FEO, V., DE SIMONE, F., SENATORE, F. Potential allelochemicals from the essential oil of *Ruta graveolens*. **Phytochemistry**, v. 61, n. 5, p. 573-8, 2002.

DE MELO, J. I. M.. Flora do Parque Nacional do Catimbau, Pernambuco, Brasil: Boraginaceae sensu lato. **Biotemas**, v. 25, n. 4, p. 109-120, 2012.

DE SOUZA, R.C. et al. A new imidazole alkaloid and other constituents of *Pilocarpus grandiflorus* and its antifungal activity. **Zeitschrift fur Naturforsch. - Seita. B J. Chem. Sci.**, v.60, p. 787 – 791, 2005.

DIAS, A. M. A., et al. Spilanthol from *Spilanthes acmella* flowers, leaves and stems obtained by selective supercritical carbon dioxide extraction. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 61, n. 9, p. 62-70, 2012.

DO CARMO, G. et al. Phytochemical and antimicrobial study of *Pilocarpus pennatifolius* Lemaire. **Fitoterapia**, v. 131, p.1-8, 2018.

DOS SANTOS, A. C. et al. Anesthesia and anesthetic action mechanism of essential oils of *Aloysia triphylla* and *Cymbopogon flexuosus* in silver catfish (*Rhamdia quelen*). **Veterinary anaesthesia and analgesia**, v. 44, n. 1, p. 106-113, 2017.

DRESLER, S.; SZYMCZAK, G.; WÓJCIK, M.. Comparison of some secondary metabolite content in the seventeen species of the Boraginaceae family. **Pharmaceutical biology**, v. 55, n. 1, p. 691-695, 2017.

DUBEY, S., MAITY, S., SINGH, M., SARAF, S. A., & SAHA, S. Phytochemistry, pharmacology and toxicology of *Spilanthes acmella*: a review. **Adv. Pharmacol. Sci.**, v. 2013, p. 1-9, 2013.

EDRIS, A. E. Pharmaceutical and therapeutic potentials of essential oils and their individual volatile constituents: a review. **Phytother. Res.** v. 21, p. 308–323, 2007.

EFSA Panel on Food Contact Materials, Enzymes, Flavourings and Processing Aids (CEF). Scientific Opinion on Flavouring Group Evaluation 303, Revision 1 (FGE. 303Rev1): Spilanthol from chemical group 30. **EFSA Journal**, v.13, n.1, p. 3995, 2015.

ESTEVEZ, I., et al. Gastric anti-ulcer and anti-inflammatory activities of the essential oil from *Casearia sylvestris* Sw. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 101, n. 13, p. 191-196, 2005.

EUROPEAN PHARMACOPOEIA. European directorate for the quality of medicines. Seventh ed. Strassbourg, 2010.

ÉZIO R. A. S., et al. Computational investigation of the alkaloids of *Pilocarpus microphyllus* species as phytopharmaceuticals for the inhibition of sterol 14 $\alpha$ -

demethylase protease of *Trypanosoma cruzi*. **Journal of Biomolecular Structure and Dynamics**, v. 21, p. 1-19, 2022.

FAÇANHA, M.F.; GOMES, L.C. A eficácia do mentol como anestésico para tambaqui (*Colossoma macropomum*, Characiformes: Characidae). **Acta Amazônica**, v. 35, n.1, p. 71-72, 2005.

FAO Annuaire. Fishery and Aquaculture Statistics 2018 / FAO Annuaire. Statistiques des pêches et de l'aquaculture 2018 / FAO anuário. Estadísticas de pesca y acuicultura 2018. **FAO Yearbook**: Rome, Italy, 2020.

FAVRETTO, M. A.; ZAGO, T.; GUZZI, A. Avifauna do Parque Natural Municipal Rio do Peixe, Santa Catarina, Brasil. **Atualidades Ornitológicas On-line N° 141**, ISSN 1981-8874, 2008.

FERNANDES, E. S. et al. Anti-inflammatory effects of compounds alpha-humulene and (-)-*trans*-caryophyllene isolated from the essential oil of *Cordia verbenacea*. **European Journal of Pharmacology**, v. 569, n. 3, p. 228-236, 2007.

FIGUEIREDO, A. C. et al. Factors affecting secondary metabolite production in plants: volatile components and essential oils. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 23, p. 213-226, 2008.

FLORIANO, J. F. et al. Physical, Chemical and Biological Characterization of Natural Rubber Latex Membranes Loaded with *Cordia verbenacea* DC. Extract. **Current Traditional Medicine**, v. 4, n. 2, p. 140-154, 2018.

FOSTER A.C., KEMP J.A. Glutamate- and GABA-based CNS therapeutics. **Curr. Opin. Pharmacol.**, v. 6, p. 7-17, 2006.

FRACALOSSO, D. M. et al.. Desempenho do Jundiá, *Rhandia quelen* e do dourado, *Salminus brasiliensis*, em viveiros de terra na Região Sul do Brasil. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v. 26, n. 3, p. 345-352, 2004.

FUJII N. et al. Discovery of potent thiosemicarbazone inhibitors of rhodesain and cruzain. **Bioorg. Med. Chem. Lett**, v.15, p.121-123, 2005.

GARCIA, P. S.; KOLESKY, S. E.; JENKINS, A. General anesthetic actions on GABA<sub>A</sub> receptors. **Current Neuropharmacology**, v. 8, n. 1, p. 2-9, 2010.

GARLET, Q. I. et al. (+)-Dehydrofukinone modulates membrane potential and delays seizure onset by GABA<sub>A</sub> receptor-mediated mechanism in mice. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 332, p. 52-63, 2017.

GARLET, Q. I. et al. *Nectandra grandiflora* essential oil and its isolated sesquiterpenoids minimize anxiety-related behaviors in mice through GABAergic mechanisms. **Toxicol. Appl. Pharmacol.**, v. 375, p. 64-80, 2019.

GILBERT, B. et al. *Cordia verbenacea* DC Boraginaceae. **Revista Fitos**, v. 7, n. 01, 2012.

- GOMES, D. P., CHAVES, B. W., BECKER, A. G., BALDISSEROTTO B. Water parameters affect anaesthesia induced by eugenol in silver catfish, *Rhamdia quelen*. **Aquacult. Res.**, v. 42, p. 878–886, 2011.
- GOMES, L. C.; GOLOMBIESKI, J. I.; GOMES, A. R. C. & BALDISSEROTTO, B. Biologia do jundiá *Rhamdia quelen* (Teleostei, Pimelodidae). **Ciência Rural**, v. 30, n. 1, p. 179-185, 2000.
- GOMES, L.C., et al. Efficacy of benzocaine as anesthetic for tambaqui juveniles (*Colossoma macropomum*). **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 32, n. 4, p. 426–431, 2001.
- GOMES, P.C.S.; FERREIRA, M.F. Composition of the essential oils from flowers and leaves of Vervain [*Aloysia triphylla* (L'Herit.) Britton] Grown in Portugal. **Journal of Essential Oil Research**, v. 17, p. 73-78, 2005.
- GONELI, A. L. D. et al. Cinética de secagem de folhas de erva baleeira (*Cordia verbenacea* DC.). **Revista brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 16, n. 2, p. 434-443, 2014.
- GOODMAN; GILMAN. **As bases farmacológicas da terapêutica**. 11 ed. Rio de Janeiro, RJ, Brasil, Cap. 13, p. 305-330, 2006.
- GRESSLER, L. T., et al. Silver catfish *Rhamdia quelen* immersion anaesthesia with essential oil of *Aloysia triphylla* (L'Hérit) Britton or tricaine methanesulfonate: effect on stress response and antioxidant status. **Aquaculture Research**, v. 45, n. 6, p. 1061-1072, 2014.
- GUERRA, P. M.; NODARI, O. R. Biodiversidade: aspectos biológicos, geográficos, legais e éticos. In: SIMÕES, M. O. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 3. ed. Porto Alegre: UFRGS; Florianópolis: UFSC, p. 15, 2001.
- HAJEK, G.J. The anaesthetic-like effect of tea tree oil in common carp *Cyprinus carpio* L. **Aquaculture Research**, v. 42, p. 296-300, 2011.
- HEINZMANN, B. M. et al. Processo de obtenção de extrato antiprotozoário de plantas medicinais, extrato obtido, composição antiprotozoária e uso de extratos de plantas. 2011.
- HELDWEIN, C. G. et al. Participation of the GABAergic system in the anesthetic effect of *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown essential oil. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v. 45, n. 5, p. 436-443, 2012.
- HELDWEIN, C. G. et al. S -(+)-Linalool from *Lippia alba*: sedative and anesthetic for silver catfish (*Rhamdia quelen*). **Veterinary Anaesthesia and Analgesia**, v. 41, p. 621-629, 2014.
- HELDWEIN, C. G. Isolamento do principal constituinte ativo do óleo essencial de *Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown com potencial anestésico geral e estudo do mecanismo

de ação (**Dissertação de Mestrado**), Programa de Pós Graduação em Farmacologia, Universidade Federal de Santa Maria/RS, Brasil, 2011.

HERNANDEZ, T., et al. Antimicrobial activity of the essential oil and extracts of *Cordia curassavica* (Boraginaceae). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 111, n. 1, p. 137-141, 2007.

HUI, L. I. U. et al. Evolution of the R2R3-MYB gene family in six Rosaceae species and expression in woodland strawberry. **Journal of Integrative Agriculture**, v. 18, n. 12, p. 2753-2770, 2019.

HUMMER K. E., JANICK J. Rosaceae: taxonomy, economic importance, genomics. In: Folta K. M., Gardiner S. E., ed. **Genetics and Genomics of Rosaceae**. New York, USA: Springer. p. 1–17, 2009.

HUSSAIN, A. I., ANWAR, F., SHERAZI, S. T. H., AND PRZYBYLSKI, R. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of basil (*Ocimum basilicum*) essential oils depends on seasonal variations. **Food Chem.** v. 108, p. 986–995, 2008.

IBARRA-ALVARADO C. et al. Vasorelaxant constituents of the leaves of *Prunus serotina* “Capulín”. **Rev. Latinoam. Quím**, v. 37, p. 164-173, 2009.

IGARASHI, M. A. et al. Potencial econômico do agronegócio da produção de peixes ornamentais no Brasil e no mundo. **Revista de Ciências Agrárias Amazonian Journal of Agricultural and Environmental Sciences**, v. 42, p. 293-313, 2004.

IMJAI, P. et al. Anesthetic efficiency of *Spilanthes acmella* on anesthesia, haematocrit and histopathology of Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. **Aquaculture, Aquarium, Conservation & Legislation**, v. 14, n. 2, p. 695-703, 2021.

INOUE, L.A.K.A; SANTOS NETO, C.; MORAES, G. Clove oil as anaesthetic for juveniles of matrinxã *Brycon cephalus* (Gunther, 1869). **Ciência Rural**, v. 33, n. 5, p. 943-947, 2003.

IOSET, J.R., et al. Antifungal and larvicidal cordiaquinones from the roots of *Cordia curassavica*. **Phytochemistry**, v. 53, n. 5, p. 613-617, 2000.

JACHAK S. M., SAKLANI, A. Challenges and opportunities in drug discovery from plants. **Current Science**, v. 92, n. 9, p. 1251-1257, 2007.

JAFARINIA, M.; JAFARINIA, M. A Review of Medicinal Properties of some Asteraceae Family Plants on Immune System. **Rep. Health Care**, v. 5, p. 1–7, 2019.

JUDD, W. S., CAMPBELL, C. S., KELLOGG, E. A., STEVENS, P. F., DONOGHUE, M. J. **Sistemática Vegetal: Um Enfoque Filogenético**, 3 ed. Porto Alegre: Artmed, p. 612, 2009.

KASSIM N.K. et al. Antioxidant activity-guided separation of coumarins and lignan from *Melicope glabra* (Rutaceae). **Food Chemistry**, v. 139, p. 87 – 92, 2013.

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

KERDOGAN-ORHAN I., KARTAL M. Insights into research on phytochemistry and biological activities of *Prunus armeniaca* L. (apricot). **Food Res. Int**, v. 44, p.1238-1243, 2011.

KOKNAROGLU, H., AKUNAL, T. Animal welfare: An animal science approach. **Meat Science**, v. 95, n. 4, p. 821-827, 2013.

LAZZARI, R. et al. Diferentes fontes proteicas para a alimentação do jundiá (*Rhamdia quelen*). **Ciência Rural**, v. 36, n. 1, p. 240-246, 2006.

LEE, B. H., et al. Fumigant toxicity of essential oils and their constituent compounds towards the rice weevil, *Sitophilus oryzae* (L.). **Crop Protection**, v. 20, n. 4, p. 317–320, 2001.

LEITE, M. P. et al. Behavioral effects of essential oil of *Citrus aurantium* L. inhalation in rats. **Rev. Bras. Farmacogn.**, v. 18, p. 661-6, 2008.

LIAQAT, I et al. Toxicological evaluation of essential oils from some plants of Rutaceae family. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2018, 2018.

LIMBERGER, R. P.; SOBRAL, M.; HENRIQUES, A. T. Óleos voláteis de espécies de *Myrcia* nativas do Rio Grande do Sul. **Química Nova**, v. 27, n. 6, p. 916-919, 2004.

LIRA, P.L. et al. Characterization of lemon verbena (*Aloysia citriodora* Palau) from Argentina by the essential oil. **Journal of Essential Oil Research**, v. 20, p. 350-353, 2008.

LONGHI S., GIONGO L., BUTI M., SURBANOVSKI N., VIOLA R., VELASCO R., WARD J. A., SARGENT D. J. Molecular genetics and genomics of the Rosoideae: State of the art and future perspectives. **Horticulture Research**, v. 1, 2014.

LORENZI H.; MATOS F. J. A. Plantas Mediciniais no Brasil: Nativas e Exóticas, **Instituto Plantarum de Estudos da Flora Ltda**, Nova Odessa, Brazil, 2nd edition, p. 14-191, 2008.

LUCIO, E. M. R. de A.; SHARAPIN, N.; FRANÇA, H. S. Estudo de alcalóides de *Pilocarpus pennatifolius* Lemaire. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 12, p. 130-131, 2002.

LU-IRVING, P. et al. Resolving the genera *Aloysia* and *Acantholippia* within tribe Lantaneae (Verbenaceae), using chloroplast and nuclear sequences. **Systematic Botany**, v. 39, n. 2, p. 644-655, 2014.

LV, M. et al. Medicinal uses, phytochemistry and pharmacology of the genus *Dictamnus* (Rutaceae). **Journal of Ethnopharmacology**, v.171, p. 247-263, 2015.

- MACCHIONI, F. et al. Composition and acaricidal activity of *Laurus novocanariensis* and *Laurus nobilis* essential oils against *Psoroptes cuniculi*. **Journal of Essential Oil Research**, v. 18, p. 111-114, 2006.
- MAISTRO, E.L., CARVALHO, J.C., MANTOVANI, M.S. Evaluation of the genotoxic potential of the *Casearia sylvestris* extract on HTC and V79 cells by the comet assay. **Toxicology In Vitro**, v. 18, p. 337–342, 2004.
- MANAYI, A., NABAVI, S. M., DAGLIA, M., JAFARI, S. Natural terpenoids as a promising source for modulation of GABAergic system and treatment of neurological diseases. **Pharmacol. Rep.** v. 68, p. 671–679, 2016.
- MARQUES, A. P. S. et al. Chemical composition of essential oil from *Varronia curassavica* Jacq. accessions in different seasons of the year. **Industrial Crops and Products**, v. 140, p. 111656, 2019.
- MARTIM, J. K.P.; MARANHO, L. T.; COSTA-CASAGRANDE, T. A. Review: Role of the chemical compounds present in the essential oil and in the extract of *Cordia verbenacea* DC as an anti-inflammatory, antimicrobial and healing product. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 265, p. 113300, 2021.
- MATIAS, E. F. et al. Atividade antibacteriana in vitro de *Croton campestris* A., *Ocimum gratissimum* L. e *Cordia verbenacea* DC. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 8, n. 3, 2010.
- MATTOS, E. S., et al. Evaluation of antinociceptive activity of *Casearia sylvestris* and possible mechanism of action. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 112, n. 2, p.1-6, 2007.
- MELO, J. I. M. de; ANDRADE, W. M. de. Boraginaceae sl A. Juss. em uma área de Caatinga da ESEC Raso da Catarina, BA, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 21, p. 369-378, 2007.
- MELO, N. C. de et al. Anxiolytic and Antidepressant Effects of the Hydroethanolic Extract from the Leaves of *Aloysia polystachya* (Griseb.) Moldenke: A Study on Zebrafish (*Danio rerio*). **Pharmaceuticals**, v. 12, n. 3, p. 106, 2019.
- MERÉTIKA, A. H. C., et al. Local knowledge of medicinal plants in three artisanal fishing communities (Itapoá, Southern Brazil), according to gender, age, and urbanization. **Acta Botanica Brasilica**, v. 24, n. 2, p. 386-394, 2010.
- MICHIELIN, E. M. Z., et al. Chemical composition and antibacterial activity of *Cordia verbenacea* extracts obtained by different methods. **Bioresource Technology**, v. 100, n. 24, p. 6615-6623, 2009.
- MOHAMMADHOSSEINI, M. et al. An overview of the genus *Aloysia* Paláu (Verbenaceae): Essential oil composition, ethnobotany and biological activities. **Natural Product Research**, p. 1-17, 2021.

- MOLENTO, C. F. M. Medicina veterinária e bem-estar animal. **Revista do Conselho Federal de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Brasília, v. 28/29, p. 15-20, 2003.
- MONTANARI, R.M. et al. Chemical composition and antibacterial activity of essential oils from Verbenaceae species: alternative sources of (*E*)-caryophyllene and germacrene-D. **Química Nova**, v. 34, n. 9, p. 1550-1555, 2011.
- MORAIS, L. A. S. Influence of abiotic factors on the chemical composition of essential oils. **Hortic. Bras.**, v. 27, p. 4050–4063, 2009.
- MORS, W.B.; RIZZINI, C.T.; PEREIRA, N.A. Medicinal Plants of Brazil. **Reference Publications, Inc.**, Algonac, Michigan, p. 501, 2000.
- NEIFFER, D. L.; STAMPER, M. A. Fish sedation, anesthesia, analgesia, and eutanásia: considerations, methods, and types of drugs. **Institute for Laboratory Animal Research Journal (ILAR)**, v. 50, n. 4, p. 343-360, 2009.
- NIST, N. I. S. T. Mass spectral search for the NIST/EPA/NIH mass spectral library, 2. **National Institute of Standards and Technology**, Gaithersburg, USA, p. 49, 2008.
- NIST, N.I.S.T. **National Institute of Standards and Technology**. NIST Web chemistry book, SRD 69. Doi: <https://doi.org/10.18434/T4D303>. Acesso em setembro de 2021.
- NIZIO, D. A. D. C., et al. Chemical diversity of native populations of *Varronia curassavica* Jacq. and antifungal activity against *Lasiodiplodia theobromae*. **Industrial Crops and Products**, v. 76, p. 437-448, 2015.
- NOMURA, E. C. O., et al. Antinociceptive effects of ethanolic extract from the flowers of *Acmella oleracea* (L.) RK Jansen in mice. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 150, n. 2, p. 583-589, 2013.
- O'LEARY, N.; CALVIÑO, C.I.; MARTÍNEZ, S.; LU-IRVING, P.; OLMSTEAD, R.G.; MÚLGURA, M.E. Evolution of morphological traits in Verbenaceae. **Am. J. Bot.**, v. 99, p. 1778–1792, 2012.
- O'LEARY N., LU-IRVING P., MORONI P., SIEDO S. Taxonomic Revision of *Aloysia* (Verbenaceae, Lantaneae). **Annals of the Missouri Botanical Garden**, v. 101, n. 3, p. 568-609, 2016.
- OBERLIES, N. H., et al. Novel bioactive clerodane diterpenoids from the leaves and twigs of *Casearia sylvestris*. **Journal of Natural Products**, v. 65, n. 2, p. 95-99, 2002.
- OLIVEIRA, M. Laboratório em renovação. **Pesquisa Fapesp**, v. 255, p. 74-77, 2017.
- PANDEY, V.; CHOPRA, M.; AGRAWAL, V. In vitro isolation and characterization of biolarvicidal compounds from micropropagated plants of *Spilanthes acmella*. **Parasitology Research**, v. 108, n. 2, p. 297–304, 2011.
- PANTER, K.E. Cyanogenic glycoside–Containing plants. **Veterinary Toxicology**, Elsevier, Chapter 64, p. 935-940, 2018.



PARODI, T. V. et al. Chemical composition of the essential oil of *Aloysia triphylla* under seasonal influence and its anaesthetic activity in fish. **Aquaculture Research**, v. 51, p. 2515-2524, 2020.

PARODI, T. V. et al. Anesthetic activity of *Aloysia triphylla* essential oil and effectiveness in reducing stress during transport of albino and ash strains of silver catfish, *Rhamdia quelen*. **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 40, n. 2, p. 323-334, 2014.

PASSOS, C. S. et al. Terpenóides com atividade sobre o sistema nervoso central (SNC). **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 19, n. 1A, p. 140-149, 2009.

PASSOS, G. F., et al.. Anti-inflammatory and anti-allergic properties of the essential oil and active compounds from *Cordia verbenacea*. **Journal of Ethanopharmacology**, v. 110, n. 2, p. 323-333, 2007.

PEANA, A. T. et al. (-) – Linalool produces antinociception in two experimental models of pain. **Eur. J. Pharmacol.**, v. 460, n. 1, p. 37-41, 2003.

PÉREZ ZAMORA, C. M.; TORRES, C. A.; NUÑEZ, M. B. Antimicrobial activity and chemical composition of essential oils from Verbenaceae species growing in South America. **Molecules**, v. 23, n. 3, p. 544, 2018.

PES, T. S. et al. Quercetin in the diet of silver catfish: Effects on antioxidant satatus, blood parameters and pituitary hormone expression. **Aquaculture**, v. 458, p. 100-106, 2016.

PHIPPS J. B. Flora of North America North of Mexico, v. 9, **Magnoliophyta: Picramniaceae to Rosaceae**. New York and Oxford: Oxford University Press, 2014.

PINTO A. C., SILVA D. H. S., BOLZANI V. S., LOPES N. P., EPIFANIO R. A. Produtos naturais: Atualidade, desafios e perspectivas. **Quim. Nov**, v.25, p. 45-61, 2002.

PRACHAYASITTIKUL S. et al. High therapeutic potential of *Spilanthes acmella*: a review, **EXCLI Journal**, v. 12, p. 291–312, 2013.

QUISPE-CONDORI, S. et al. Obtaining  $\beta$ -caryophyllene from *Cordia verbenacea* de Candolle by supercritical fluid extraction. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 46, n. 1, p. 27-32, 2008.

REFSIO, C. et al. Clinical assessment of efficacy and safety from *Cordia verbenacea* satandardized extract in tendinitis and chronical miofacial pain patients. **RBM: Revista Brasileira de Medicina**, v. 62, n. 1 / 2, p. 40-46, 2005.

REILLY S.C., et al. Behavioural analysis of a nociceptive event in fish: comparisons between three species demonstrate specific responses. **Appl Anim Behav Sci.**, v. 114, p. 248-259, 2008.

- RIOS, M. Y.; AGUILAR-GUADARRAMA, A. B.; GUTIÉRREZ, M. D. C. Analgesic activity of affinin, an alkamide from *Heliopsis longipes* (Compositae). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 110, p. 364-367, 2007.
- ROCHA, M. A. D. et al. Determinação da dose ótima de cloridrato de benzocaína na anestesia de tilápias (*Oreochromis niloticus*). **Semina: Ciências Agrárias, Londrina, PR**, v. 33, n. 6, p. 2403-2409, 2012.
- RODRIGUES, F. F. G., et al. Chemical composition, antibacterial and antifungal activities of essential oil from *Cordia verbenacea* DC leaves. **Pharmacognosy Research**, v. 4, n. 3, p. 161-165, 2012.
- RODRIGUES, P. et al. Nociceptive-like behavior and analgesia in silver catfish (*Rhamdia quelen*). **Physiology & Behavior**, v. 210, p. 112648, 2019.
- ROJAS, J., et al. Efecto del aceite esencial de *Aloysia triphylla* Britton (cedrón) sobre el *Trypanosoma cruzi* en ratones. **Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública**, v. 29, n. 1, p. 61-68, 2012.
- ROLDÃO, E. F., et al. Evaluation of the antiulcerogenic and analgesic activities of *Cordia verbenacea* DC. (Boraginaceae). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 119, p. 94-98, 2008.
- ROLNIK, A.; OLAS, B. The plants of the Asteraceae Family as agents in the protection of human health. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 6, p. 3009, 2021.
- ROMÃO, N.F., SILVA, F.C., VIANA, R.N., FERRAZ, A.B.F. Phytochemical analyses and antioxidant potential of *Spilanthes acmella* flowers extract. **South American Journal of Basic Education, Technical and Technological**, v. 2, p. 23-32, 2015
- ROMERO, M. E. M., et al. Morfología de las inflorescencias en Verbenaceae, Verbenoideae iii: \*tribu Lantaneae pp. **Darwiniana**, v. 40, p. 1-4, 2002.
- RONDANELLI, M. et al. *Acmella oleracea* for pain management. **Fitoterapia**, v. 140, p. 104419, 2020.
- ROQUES J.A.C. et al: Tailfin clipping, a painful procedure: studies on *Nile tilapia* and *Common carp*. **Physiol. Behav.**, v. 101, p. 533-540, 2010.
- ROSA, I.A. et al. Extracts of *Hesperozygis ringens* (Benth.) Epling: in vitro and in vivo antibacterial activity against fish pathogenic bacteria. **Journal of Applied Microbiology**, v. 126, p. 1353-1361, 2019.
- ROSE J.D. The neurobehavioral nature of fishes and the question of awareness and pain. **Ver. Fisheries Sci.**, v. 10, p. 1-38, 2002
- ROSS, L. G.; ROSS, B. Anaesthetic and sedative techniques for aquatic animals, 3ed edition. **Blackwell Scientific Publications**, Oxford, UK, p. 222-236, 2008.

- ROSSATO, M. et al. Avaliação do óleo essencial de *Aloysia sellowii* (Briquet) Moldenke (Verbanaceae) do sul do Brasil. **Química Nova**, v. 29, n. 2, p. 200-202, 2006.
- ROUBACH, R., DE CARVALHO, G. L., VAL, A. L. Safest level of tricaine methanesulphonate (MS-222) to induce anesthesia in juveniles of matrinxa, *Brycon cephalus*, **Acta Amazonica**, v. 31, p. 159-163, 2001.
- SAHU, J., JAIN, K., JAIN, B., SAHU, R.K. A review on phytopharmacology and micropropagation of *Spilanthes acmella*. **PhOL**, v. 2, p. 1105-1110, 2011.
- SANTOS A. P., MORENO P. R. H. *Pilocarpus spp*: levantamento de seus constituintes químicos e atividades biológicas. **Rev. Bras. Ciências Farm.**, v. 40, p. 116 – 137, 2004.
- SANTOS, A. P. et al. Analysis of the volatile oil from *Pilocarpus pennatifolius* Lemmaire (Rutaceae) leaves by GC-MS. **Flavour and fragrance journal**, v. 19, n. 4, p. 325-326, 2004a.
- SAWAYA, A. C. H. F.; VAZ, B. G.; EBERLIN, M. N.; MAZZAFERA, P. Screening species of *Pilocarpus* (Rutaceae) as sources of pilocarpine and other imidazole alkaloids. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 58, p. 471–480, 2011.
- SCIARRONE, D., et al. Quali-quantitative characterization of the volatile constituents in *Cordia verbenacea* D.C. essential oil exploiting advanced chromatographic approaches and nuclear magnetic resonance analysis. **Journal of Chromatography A**, v. 1524, p. 246-253, 2017.
- SEGNER, H. et al. Health of farmed fish: its relation to fish welfare and its utility as welfare indicator. **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 38, p. 85-105, 2012.
- SERIANI, R., et al. In vitro mucus transportability, cytogenotoxicity, and hematological changes as non-destructive physiological biomarkers in fish chronically exposed to metals. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 112, p. 162-168, 2015.
- SERTIÉ, J. A. A.; WOISKY, R. G.; WIEZEL, G.; RODRIGUES, M. Pharmacological assay of *Cordia verbenacea* V: oral and topical anti-inflammatory activity, analgesic effect and fetus toxicity of a crude leaf extract. **Phytomedicine**, v. 12, n. 5, p. 338-344, 2005.
- SIEDO, S. J. Systematics of *Aloysia* (Verbenaceae). (**Doutorado em Fisiologia**) - University of Texas, Austin, p. 209, 2006.
- SIGEL, E.; STEINMANN, M. E. Structure, function, and modulation of GABA<sub>A</sub> receptors. **Journal of Biological Chemistry**, v. 287, n. 48, p. 40224-40231, 2012.
- SILVA V. G. et al. Anti-inflammatory and antinociceptive activity of epiisopiloturine, an imidazole alkaloid isolated from *Pilocarpus microphyllus*, **J. Nat. Prod.**, n.76, p. 1071–1077, 2013a.

- SILVA, L. L. et al. Anesthetic activity of Brazilian native plants in silver catfish (*Rhamdia quelen*). **Neotropical Ichthyology**, v. 11, n. 2, p. 443-451, 2013.
- SILVA, L. L. et al. Anesthetic activity of the essential oil of *Ocimum americanum* in *Rhamdia quelen* and its effects on stress parameters. **Neotrop. Ichthyol.**, v. 13, n. 4, p. 715-722, 2015.
- SILVA, L. L. et al. S-(+)- and R-(-)-linalool: a comparison of the in vitro anti-*Aeromonas hydrophila* activity and anesthetic properties in fish. **Annals of the Brazilian Academy of Sciences**, v. 89, n. 1, p. 203-212, 2017.
- SILVA, L. L., et al. Essential oil of *Ocimum gratissimum* L.: anesthetic effects, mechanism of action and tolerance in silver catfish, *Rhamdia quelen*. **Aquaculture**, v. 350, p. 91-97, 2012.
- SILVA, L. L., et al. Sedative and anesthetic activities of the essential oils of *Hyptis mutabilis* (Rich.) Briq. and their isolated components in silver catfish (*Rhamdia quelen*). **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v. 46, n. 9, p. 771 – 779, 2013b.
- SIMIÉ, A. et al. The chemical composition of some Lauraceae essential oils and their antifungal activities. **Phytotherapy Research**, v. 18, p. 713-717, 2004.
- SIMIONATTO, E. Composition and antimicrobial activity of the essential oil from *Aloysia sellowii*. **Journal of Brazilian Chemical Society**, v. 16, n. 6, p. 1458-1462, 2005.
- SIMÕES, C. M. O. et al. Org. **Farmacognosia: do Produto Natural ao Medicamento**/ Porto Alegre: Artmed, xv, 486, ISBN -8271-359-4, 2017.
- SIMÕES, L. N. et al. The use of clove oil as an anesthetic for advanced juvenile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Acta Scientiarum**, v. 34, n. 2, p. 175-181, 2012.
- SINGH M.; CHATURVED R. Screening and quantification of an antiseptic alkylamide, spilanthol from in vitro cell and tissue cultures of *Spilanthus acmella* Murr. **Industrial Crops and Products**, v. 36, n. 1, p. 321-328, 2012.
- SKOPURA L. A. Revisão taxonomica de *Pilocarpus* Vahl (Rutaceae) PhD Dissertation. **Institute of Biosciences**, University of São Paulo. São Paulo, 1996.
- SKOPURA L. A., SALATINI M. L. F., SALATINO A. Hydrocarbons of leaf epicuticular waxes of *Pilocarpus* (Ruteaceae): Taxonomic meaning. **Biochem Syst Ecol** v. 26, p. 655-662, 1998.
- SMITH, S. A. Chapter 17 - Welfare of laboratory fishes. In: TURNER, K. B. V. (Ed.). **Laboratory Animal Welfare**. Boston: Academic Press, p. 301-311. ISBN 978-0-12-385103-1, 2014.
- SNEDDON, L. U. Clinical anesthesia and analgesia in fish. **Journal of Exotic Pet Medicine**, v. 21, n. 1, p. 32-43, 2012.

SNEDDON, L. U. The evidence for pain in fish: The use of morphine as an analgesic. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 83, p. 153-162, 2003.

SNEDDON L.U. Pain perception in fish: indicators and endpoints. **Ilar J.**, v. 50, p. 338-342, 2009.

SOUSA, D. P. Analgesic-like activity of essential oils constituents. **Molecules**, v. 16, n. 3, p. 2233-2252, 2011.

SOUSA, D. P. et al. Study of anticonvulsant effect of citronellol, a monoterpene alcohol, in rodents. **Neurosci. Lett.**, v. 401, n. 3, p. 231-5, 2006.

SOUZA, C. de F., et al. Essential oils as stress reducing agents in fish farming: a review. **Frontiers in Physiology**, v. 10, p. 785, 2019.

SOUZA, C. F. 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 Physiol. Biochem.** v. 44, p. 21–34, 2018.

SOUZA, C. F. et al. Physiological responses of silver catfish to anesthesia with essential oils from two different chemotypes of *Lippia alba*. **Neotrop. Ichthyol.** v. 15, p. e160083, 2017.

SOUZA, F.C. et al. *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard, 1824), submitted to a stressful condition: effect of dietary addition of the essential oil of *Lippia alba* on metabolism, osmoregulation and endocrinology. **Neotropical Ichthyology**, v. 13, n. 4, p. 707-714, 2015.

SOUZA, L. A. et al. Morfologia e anatomia da flor de *Pilocarpus pennatifolius* Lem. (Rutaceae). **Brazilian Journal of Botany**, v. 26, p. 175-184, 2003.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação de famílias de fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APG III. Nova Odessa, Sao Paulo: Instituto **Plantarum**, p. 768, 2012.

STETTER, M. D. Fish and amphibian anesthesia. **Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice**, v. 4, n. 1, p. 69-82, 2001.

SUÁREZ-MAHECHA, H. et al. Importance of polyunsaturated fatty acids present in pond-reared and wild fish for human nutrition. **Fisheries Institute Bulletin**, v. 28, n. 1, p. 101-110, 2018.

SUTILI, F.J. et al. The use of nitazoxanide against the pathogens *Ichthyophthirius multifiliis* and *Aeromonas hydrophila* in silver catfish (*Rhamdia quelen*). **Veterinary Parasitology**, v. 197, p. 522-526, 2013.

SWAMY, M. K., AKHTAR, M. S., AND SINNIHAH, U. R. (2016). Antimicrobial properties of plant essential oils against human pathogens and their mode of action: an updated review. **Evid Based Complement. Alternat. Med.**, v. 2016, p. 3012462, 2016.

TAN, M. A. et al. Phyto-Carbazole Alkaloids from the Rutaceae Family as Potential Protective Agents against Neurodegenerative Diseases. **Antioxidants**, v. 11, n. 3, p. 493, 2022.

TICLI, F. K., et al. Rosmarinic acid, a new snake venom phospholipase A2 inhibitor from *Cordia verbenacea* (Boraginaceae): antiserum action potentiation and molecular interaction. **Toxicon**, v. 46, n. 3, p. 318-327, 2005.

TIWARI, K.L., JADHAV, S.K., JOSHI, V. An updated review on medicinal herb genus *Spilanthes*. **J. Integr. Med.**, v. 9, p. 1170-1178, 2011.

TONDOLO, J. S. M. et al. Anesthesia and transport of fat snook *Centropomus parallelus* with the essential oil of *Nectandra megapotamica* (Spreng.) Mez. **Neotropical Ichthyology**, v. 11, n. 3, p. 667-674, 2013.

TRANQUILLI, W. J. et al. **Lumb & Jones Anestesiologia e Analgesia Veterinária**. 2013.

UDAW. **Universal Declaration of Animal Rights**, 2013. <http://www.weeac.com/universal-declaration-of-animal-rights.html>

ULLAH, H., et al. An overview of the health benefits of *Prunus* species with special reference to metabolic syndrome risk factors. **Food and Chemical Toxicology**, v. 144, p. 111574, 2020.

UMEZU, T. et al. Anticonflict effects of rose oil and identification of its active constituents. **Life Sci.**, v. 72, n. 1, p. 91-102, 2002.

VENDRUSCOLO, G. S.; MENTZ, L. A. Ethnobotanical survey of the medicinal plants used by the community of Ponta Grossa neighborhood, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil. **Iheringia, Série Botânica**, v. 61, n. 1-2, p. 83-103, 2006.

VENUGOPALA, K. N.; RASHMI V.; ODHAV, B. Artigo de revisão de revisão sobre compostos naturais de chumbo cumarina quanto à sua atividade farmacológica. **B. Res. Int.**, v. 963.248, p. 1 – 14, 2013.

VERDE I. et al. The high-quality draft genome of peach (*Prunus persica*) identifies unique patterns of genetic diversity, domestication and genome evolution. **Nat Genet.** v. 45, p. 487–494, 2013.

VICENTE, A. L. Uso de óleos essenciais e de compostos sintéticos como agentes anestésicos para o lambari *Astyanax altiparanae* (Garutti & Britski, 2000). Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Federal do Paraná (**Dissertação de Mestrado**), 2014.

WEBER, L. D. et al. Chemical composition and antimicrobial and antioxidant activity of essential oil and various plant extracts from *Prunus myrtifolia* (L.) Urb. **African Journal of Agricultural Research**, v. 9, n. 9, p. 846-853, 2014.

WEHMEIER, S. **Oxford advanced learner's dictionary**. Oxford University Press., 2005.

WHITTINGTON, R. J., CHONG, R. Global trade in ornamental fish from an Australian perspective: the case for revised import risk analysis and management strategies. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 81, n. 1–3, p. 92–116, 2007.

WILLIAMS, T., READMAN, G., OWEN, S. Key issues concerning environmental enrichment for laboratory-held fish species. **Lab. Anim**, v. 43, p. 107–120, 2009.

WONGSAWATKUL, O. et al. Vasorelaxant and antioxidant activities of *Spilanthes acmella* Murr. **Int. J. Mol. Sci.**, v. 9, p. 2724-2744, 2008.

WU, L. C., et al. Anti-inflammatory effect of spilanthol from *Spilanthes acmella* on murine macrophage by down-regulating LPS-induced inflammatory mediators. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v. 56, p. 2341–2349, 2008.

XIMENES, R. M. et al. Antitumor activity of leaves from *Hyptis mutabilis* (A. Rich.) Briq. (Lamiaceae) in Mice Bearing Tumor. **Dataset Papers in Pharmacology**, v. 2013, 169357, 2013.

XIMENES, L. F. **Produção de pescado no Brasil e no Nordeste brasileiro**, n. 150, 2021.

YUNES, R. A., PEDROSA, R. C., FILHO, V. C. Fármacos e fitoterápicos: a necessidade do desenvolvimento da indústria de fitoterápicos e fitofármacos no Brasil. **Química Nova**, v. 24, n. 1, p. 147-152, 2001.

ZAHL, I. H.; SAMUELSEN, O. B.; KIESSLING, A. Anaesthesia of farmed fish: implications for welfare. **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 38, n.1, p. 201-218, 2012.

ZAPPI, D. C. et al. Lista das plantas vasculares de Catolés, Chapada Diamantina, Bahia, Brasil. **Bol. Bot. Univ. São Paulo**, v. 21, n. 2, p. 251-400, 2003.

ZEDER, M. A., HESSE, B. The initial domestication of goats (*Capra hircus*) in the Zagros Mountains 10,000 years ago. **Science**, Washington, DC, v. 287, p. 2254-2257, 2000.

ZEPPENFELD, C. C., et al. *Aloysia triphylla* essential oil as food additive for *Rhamdia quelen*—Stress and antioxidant parameters. **Aquaculture Nutrition**, v. 23, n. 6, p. 1362-1367, 2017.

ZEPPENFELD, C. C., et al. Essential oil of *Aloysia triphylla* as feed additive promotes growth of silver catfish (*Rhamdia quelen*). **Aquaculture Nutrition**, v. 22, n. 4, p. 933-940, 2016.

ZEPPENFELD, C. C., et al. Physiological and biochemical responses of silver catfish, *Rhamdia quelen*, after transport in water with essential oil of *Aloysia triphylla* (L'Herit) Britton. **Aquaculture**, v. 418, p. 101-107, 2014.

ZHANG, Q. et al. The genome of *Prunus mume*. **Nat Commun**, v. 3, p. 1318, 2012.

ZHAO, L., et al. Phylogeny and spatio-temporal diversification of *Prunus* subgenus *Laurocerasus* section *Mesopygeum* (Rosaceae) in the Malesian region. **J. Systemat. Evol**, v. 56, n. 6, p. 637–651, 2018.

ZONG, D. et al. Plastome sequences help to resolve deep-level relationships of *Populus* in the family Salicaceae. **Frontiers in Plant Science**, v. 10, p. 5, 2019.