

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
CURSO DE DOUTORADO**

Suplementação com óleo essencial e extrato aquoso de manjeriço (*Ocimum basilicum*) na dieta de pacu (*Piaractus mesopotamicus*)

Rebeca Maria Sousa

Campo Grande – MS

2024

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
CURSO DE DOUTORADO

Suplementação com óleo essencial e extrato aquoso de manjeriço (*Ocimum basilicum*) na dieta de pacu (*Piaractus mesopotamicus*)

Rebeca Maria Sousa

Orientador: Prof. Dr. Jayme Aparecido Povh

Coorientador: Prof. Dr. Ruy Alberto Caetano

Corrêa Filho

Tese apresentada à Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, como requisitos à obtenção do título de Doutora em Ciência Animal. Área de Concentração: Produção Animal.

Campo Grande, MS

2024



Serviço Público Federal
Ministério da Educação
Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul



Certificado de aprovação

REBECA MARIA SOUSA

SUPLEMENTAÇÃO COM ÓLEO ESSENCIAL E EXTRATO AQUOSO DE MANJERICÃO (*OCIMUM BASILICUM*) NA DIETA DE PACU (*PIARACTUS MESOPOTAMICUS*)

SUPPLEMENTATION WITH ESSENTIAL OIL AND AQUEOUS EXTRACT OF BASIL (*OCIMUM BASILICUM*) IN THE DIET OF PACU (*PIARACTUS MESOPOTAMICUS*)

Tese apresentada à Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, como requisito para obtenção do título de Doutora em Ciência Animal. Área de concentração: Produção Animal.

Aprovado em: 05-04-2024
BANCA EXAMINADORA:

Dr. Jayme Aparecido Povh
(UFMS) – Presidente

Dra. Arlene Sobrinho Ventura
(UFGD)

Dr. Carlos Eurico dos Santos Fernandes
(UFMS)

Dra. Milena Wolff Ferreira
(UCDB)

Dr. Dr. Ruy Alberto Caetano Correa Filho
(UFMS)

NOTA
MÁXIMA
NO MEC

UFMS
É 10!!!



Documento assinado eletronicamente por **Jayme Aparecido Povh, Professor do Magisterio Superior**, em 15/04/2024, às 10:25, conforme horário oficial de Mato Grosso do Sul, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).

NOTA
MÁXIMA
NO MEC

UFMS
É 10!!!



Documento assinado eletronicamente por **Arlene Sobrinho Ventura, Usuário Externo**, em 15/04/2024, às 12:42, conforme horário oficial de Mato Grosso do Sul, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).

NOTA
MÁXIMA
NO MEC

UFMS
É 10!!!



Documento assinado eletronicamente por **Carlos Eurico dos Santos Fernandes, Professor do Magisterio Superior**, em 15/04/2024, às 12:57, conforme horário oficial de Mato Grosso do Sul, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).

NOTA
MÁXIMA
NO MEC

UFMS
É 10!!!



Documento assinado eletronicamente por **Milena Wolff Ferreira, Usuário Externo**, em 15/04/2024, às 14:03, conforme horário oficial de Mato Grosso do Sul, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).

NOTA
MÁXIMA
NO MEC

UFMS
É 10!!!



Documento assinado eletronicamente por **Ruy Alberto Caetano Correa Filho, Professor do Magisterio Superior**, em 16/04/2024, às 08:33, conforme horário oficial de Mato Grosso do Sul, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufms.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **4794640** e o código CRC **D353E0CD**.

COLEGIADO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

Av Costa e Silva, s/nº - Cidade Universitária

Fone:

CEP 79070-900 - Campo Grande - MS

Dedicatória

As minhas amadas

Mãe, Antonia Ferreira Sousa e, minha

Avó Leonôa Ferreira Sousa (*in memoriam*).

Agradecimentos

Quero primeiramente agradecer a Deus, pela oportunidade do momento presente e por tido a oportunidade de chegar ao final deste ciclo, e que, apesar dos momentos difíceis, foi a Ele que eu sempre busquei, na fé e na esperança de sempre acreditar que seria possível.

Agradeço a minha amada mãe Antonia (“Te amo Mãe”), por sempre acreditar em mim e sempre me deu palavras de consolo, quando ela mesma não sabia que eu estava precisando.

Nesse caminho encontrei pessoas que me receberam de braços abertos, e que me ensinaram muitas coisas além do Lattes. Desde o momento em que eu vim prestar a seleção para o doutorado até o dia de hoje. São pessoas que eu tenho imensa gratidão a Deus por ter colocado em meu caminho.

Agradeço a Professor Jayme, pela paciência e por ser um orientador que todos admiram pela simplicidade e humildade, por se preocupar com seus alunos e por acreditar na minha capacidade e ter aceitado me orientar. Ao Professor Ruy, pela coorientação, pelo cuidado em todas as palavras de apoio. Ao Grupo AQUIMS por todo o aprendizado. Tenho muito orgulho de fazer parte dessa equipe.

Aos amigos que fiz aqui agradeço ainda mais, em especial ao grupo “quarteto fantástico”: Giovanna Stringhetta, Louise Spica e Lucas Brasileiro que me receberam e me aceitaram pra fazer parte dessa amizade. Aos demais amigos da pós e da graduação Yago Moura, Lavínia Salve, Laís Roque, Chryslary Diehl, Rafaela Martins, Adryadine Almeida, Felipe Cruz, Murilo Lobo, Franciely Kreutz, Paula Perius e Heloise Nantes, por terem me ajudado durante a realização do experimento de doutorado. A técnica Karina Sanches, pela ajuda e as palavras de apoio.

Agradeço aos meus amigos que mesmo longe sempre me ouviam, Romério Rodrigues e Camila Vieira, e mesmo assim nunca deixaram de se fazer presente.

Agradeço a UFMS por fazer parte desse universo, e a CAPES, pela bolsa durante o doutorado. Não menos importante, mas sempre em minha memória, a minha querida avó Leonôa, que não está presente fisicamente, mas que teria muito orgulho de estar aqui hoje, “Saudades Vó”.

A todos, minha imensa GRATIDÃO e muito OBRIGADO!

Epígrafe

Ando devagar porque já tive pressa e
levo esse sorriso porque já chorei demais
Hoje me sinto mais forte mais feliz,
quem sabe só levo a certeza
De que muito pouco sei
Ou nada sei...

- *Tocando em frente*, Almir Sater

RESUMO

SOUSA, R. M. Suplementação com óleo essencial e extrato aquoso de manjeriço (*Ocimum basilicum*) na dieta de pacu (*Piaractus mesopotamicus*). Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, 2024.

A aquicultura tem sido cada vez mais importante para suprir a necessidade crescente por pescado, o que tem impulsionado a intensificação dos sistemas de cultivo. Neste sentido, o correto manejo alimentar é fundamental para os peixes, principalmente para espécies Neotropicais como o pacu (*Piaractus mesopotamicus*) que, em geral, a exigência nutricional não se encontra completamente estabelecida. Nesse contexto, o uso de plantas medicinais, como o manjeriço (*Ocimum basilicum*), como aditivos alimentares é um atrativo devido aos seus compostos bioativos. Esses aditivos podem intensificar o crescimento, reduzir o estresse, estimular o apetite e fortalecer a imunidade dos peixes. O estudo objetivou avaliar o uso do manjeriço em duas formas (óleo essencial e extrato aquoso) como aditivo alimentar na dieta de pacu, considerando o desempenho de crescimento, resíduo muscular, histologia intestinal e parâmetros hematológicos após estresse simulado por transporte. Foram utilizados três tratamentos: (i) dieta controle (sem incorporação de *O. basilicum*) (ii) 0,5% de óleo essencial de *O. basilicum* incorporado na dieta; (iii) 0,5% de extrato aquoso de *O. basilicum* incorporado na dieta. Juvenis de pacu ($23 \text{ g} \pm 0,08$, $n=180$) foram distribuídos nas unidades experimentais (caixas de 300 L) dos três tratamentos. Foram utilizadas seis repetições (seis caixas) por tratamento. Após a biometria final aos 45 dias de cultivo os peixes foram submetidos a simulação de transporte por 4 horas para avaliar o efeito dos tratamentos ao manejo de transporte. Os principais constituintes observados no óleo essencial foram metil chavicol (70,81%) e linalol (22,04%); para o extrato aquoso foram observados teores de taninos de $262,59 \pm 24 \text{ mg kg}^{-1}$, sendo que estes constituintes foram parcialmente retidos na musculatura. A taxa de retenção do óleo essencial na ração ficou em torno de 50%, e para o extrato aquoso variou entre 77 e 82%. Os resultados demonstraram que a inclusão de manjeriço na dieta não teve efeito significativo no desempenho produtivo dos peixes. Os peixes suplementados com extrato aquoso apresentaram menor altura da mucosa intestinal (16,28 μm) em relação aos demais tratamentos. A simulação de transporte por 4 horas aumentou a concentração da glicose (basal, pós-estresse e de recuperação) nos peixes suplementados com extrato aquoso em relação aos peixes do grupo controle. Conclui-se que a suplementação de 0,5% de manjeriço (*Ocimum basilicum*), nas formas de óleo essencial (quimiotipo metil chavicol/linalol) e extrato aquoso, não apresentou efeitos benéficos no desempenho produtivo, morfologia intestinal e atenuação

do estresse de transporte simulado em pacu (*Piaractus mesopotamicus*).

Palavras-chave: aditivos fitogênicos, estresse, sistema produtivo aquícola

ABSTRACT

SOUSA, R. M. Supplementation with essential oil and aqueous extract of basil (*Ocimum basilicum*) in the diet of pacu (*Piaractus mesopotamicus*). Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, 2024.

Aquaculture has been increasingly important to meet the growing need for fish, which has driven the intensification of farming systems. In this sense, correct feeding management is fundamental for fish, especially for Neotropical species such as pacu (*Piaractus mesopotamicus*) whose nutritional requirements are generally not completely established. In this context, the use of medicinal plants, such as basil (*Ocimum basilicum*), as food additives is attractive due to their bioactive compounds. These additives can enhance growth, reduce stress, stimulate appetite and strengthen fish immunity. The study aimed to evaluate the use of basil in two forms (essential oil and aqueous extract) as a food additive in the pacu diet, considering growth performance, muscle residue, intestinal histology and hematological parameters after simulated transport stress. Three treatments were used: (i) control diet (without incorporation of *O. basilicum*) (ii) 0.5% essential oil of *O. basilicum* incorporated into the diet; (iii) 0.5% aqueous extract of *O. basilicum* incorporated into the diet. Pacu juveniles ($23 \text{ g} \pm 0.08$, $n=180$) were distributed in the experimental units (300 L boxes) of the three treatments. Six replications (six boxes) per treatment were used. After the final biometrics at 45 days of cultivation, the fish were subjected to transport simulation for 4 hours to evaluate the effect of treatments on transport management. The main constituents observed in the essential oil were methyl chavicol (70.81%) and linalool (22.04%); for the aqueous extract, tannin levels of $262.59 \pm 24 \text{ mg kg}^{-1}$ were observed, with these constituents being partially retained in the muscles. The essential oil retention rate in the feed was around 50%, and for the aqueous extract it varied between 77 and 82%. The results demonstrated that the inclusion of basil in the diet had no significant effect on the productive performance of the fish. Fish supplemented with aqueous extract had a lower intestinal mucosa height ($16.28 \text{ } \mu\text{m}$) compared to other treatments. Simulated transport for 4 hours increased the glucose concentration (basal, post-stress and recovery) in fish supplemented with aqueous extract in relation to fish in the control group. It is concluded that supplementation with 0.5% basil (*Ocimum basilicum*), in the forms of essential oil (chemotype methyl chavicol/linalool) and aqueous extract, did not present beneficial effects on productive performance, intestinal morphology and attenuation of transport stress simulated in pacu (*Piaractus mesopotamicus*).

Keywords: phytogenic additives, stress, aquaculture production system

Lista de Figuras

Capítulo I

- Figura 1. Posição do Brasil na produção mundial (Posição país) de animais aquáticos e na produção de peixes em águas continentais em 2020 (Adaptado de FAO, 2022) 15
- Figura 2. Produção da aquicultura em 2022 por tipo de produto. (Adaptado de IBGE – Pesquisa da Pecuária Municipal, 2022) 16
- Figura 3. Localização geográfica da Bacia Hidrográfica do Prata. Fonte adaptada de: <https://ecoa.org.br/agua/bacia-do-rio-da-prata/>..... 18
- Figura 4. Juvenil de pacu *Piaractus mesopotamicus* (57,26 g e 13,8 cm). Imagem: Louise Spica.....18

Capítulo II

- Figura 1. Representação de corte histológico (Hematoxilina e Eosina) da parte medial do intestino de pacu (*Piaractus mesopotamicus*) alimentados com dietas contendo óleo essencial e extrato aquoso de manjeriço (*Ocimum basilicum*) por 45 dias. AV: altura do vilo; LV: largura do vilo; AM: Altura da mucosa; LM1: largura da muscular.. 40

Lista de Tabelas

Capítulo I

- Tabela 1. Produção da aquicultura de espécies nativas, por tipo de produto ano 2022. 17
- Tabela 2. Uso de manjeriço *Ocimum basilicum* como óleo essencial em diferentes espécies de peixes.....21
- Tabela 2. Uso de manjeriço *Ocimum basilicum* como suplementação em diferentes espécies de peixes.212

Capítulo II

- Tabela 1. Análise fitoquímica das rações ofertadas nos diferentes tratamentos de inclusão de *Ocimum basilicum* na ração de juvenis de pacu (*Piaractus mesopotamicus*) por 45 dias.....44
- Tabela 2. Desempenho de crescimento de pacus (*Piaractus mesopotamicus*) submetidos a suplementação com adição de manjeriço (*Ocimum basilicum*) por 45 dias.....45
- Tabela 3. Valores medianos (postos médios) para variáveis histomorfométricas do intestino médio de pacus (*Piaractus mesopotamicus*) submetidos a suplementação com adição de manjeriço (*Ocimum basilicum*) por 45 dias.....46
- Tabela 4. Variáveis bioquímicas e hematológicas de pacus (*Piaractus mesopotamicus*) após estresse simulado por transporte (4 horas), suplementados com a incorporação de manjeriço (*Ocimum basilicum*) na dieta por 45 dias.47

Sumário

INTRODUÇÃO	13
Capítulo I	14
1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	14
1.1. Contexto da Piscicultura	14
1.2. Espécie estudada Pacu (<i>Piaractus mesopotamicus</i>)	17
1.3. Uso de aditivos na alimentação de peixes	19
1.4. Manjericão <i>Ocimum basilicum</i>	20
1.5. Estresse no transporte de peixes	24
2. OBJETIVOS	25
2.1. Objetivo Geral	25
2.2. Objetivos Específicos	25
3. REFERENCIAS	26
Capítulo II	32
1. Introdução	33
2. Material e Métodos	35
2.1. <i>Local e animais</i>	35
2.2. <i>Delineamento experimental</i>	35
2.3. <i>Obtenção e composição química do óleo essencial de <i>O. basilicum</i></i>	36
2.4. <i>Obtenção e composição química do extrato aquoso de <i>O. basilicum</i></i>	36
2.5. <i>Incorporação dos aditivos na ração</i>	37
2.6. <i>Análise da composição química das amostras de ração incorporadas com os aditivos</i> 38	
2.7. <i>Desempenho produtivo e qualidade de água</i>	39
2.8. <i>Análises histológicas</i>	39
2.9. <i>Análise residual na musculatura</i>	41
2.10. <i>Desafio por estresse – simulação de transporte</i>	41
2.11. <i>Análises hematológicas e bioquímicas</i>	42
2.12. <i>Análises estatísticas</i>	42
3. Resultados	43
3.1. <i>Análise da composição química do óleo essencial e extrato aquoso de <i>O. basilicum</i></i> .	43
3.2. <i>Análise da composição química da ração após inclusão do manjericão <i>O. basilicum</i></i>	44
3.3. <i>Taxa de incorporação de <i>Ocimum basilicum</i> na ração comercial</i>	44

3.4. <i>Desempenho de crescimento</i>	44
3.5. <i>Morfologia Intestinal</i>	45
3.6. <i>Análise do músculo</i>	46
3.7. <i>Desafio por estresse – simulação de transporte</i>	46
4. Discussão	47
5. Conclusão	52
6. Agradecimentos	52
7. Referencias	53

INTRODUÇÃO

A crescente demanda por pescado tem favorecido o aumento na produção aquícola nos últimos anos, principalmente quanto ao grupo dos peixes. Para isso tem ocorrido a intensificação dos sistemas de cultivos para garantir o máximo desempenho produtivo e evitar perdas econômicas, além de maior exigência em relação à saúde e bem-estar dos peixes. O sucesso da intensificação dos sistemas de produção depende do ambiente de cultivo, da fisiologia e saúde dos peixes.

Na busca por adotar medidas que visam diminuir os impactos que podem ser causados pela intensificação da produção, a nutrição de peixes tem buscado informações sobre a inclusão de alimentos alternativos visando maior eficiência da produção e que, além disso, possam ser alternativas para diminuição dos custos de produção, proporcionando maior crescimento e qualidade dos peixes (Rodrigues et al., 2015). Diante disso, o potencial uso de plantas medicinais como aditivos alimentares é consideravelmente atrativo, por possuírem compostos bioativos que são capazes de intensificar e tratar, promover o crescimento, diminuir o estresse, estimular o apetite, aumentar a imunidade e prevenir infecções na produção de peixes (Lieke et al., 2020; Ahmadifar et al., 2021; Dawood et al., 2022).

Pearce e Jin (2010), classificam os extratos vegetais como aditivos fitogênicos, ou seja, aditivos naturais produzidos a partir de extratos vegetais, e os apresentam como uma alternativa aos aditivos sintéticos. Contudo, o estudo desses fitogênicos ainda tem sido um desafio, pois a ação desses extratos na alimentação dos peixes é diferente, dependente da concentração, dos princípios ativos e dos níveis de inclusão desses aditivos na ração. Nesse sentido, o uso do manjeriço (*Ocimum basilicum*) como folhas e sementes, tem sido utilizado em diferentes formas na dieta animal (Mansour et al., 2023). As folhas de manjeriço podem ser utilizadas como aditivo alimentar (Tolay, 2021) e o extrato da mucilagem das folhas pode melhorar as propriedades físicas da dieta, palatabilidade e melhorou o desempenho de crescimento (Al-Hamdani et al., 2021). Além disso, apresentam vários benefícios como suplemento dietético (Mansour et al., 2023).

Peixes Neotropicais Sul-americanos, como o pacu (*Piaractus mesopotamicus*) têm grande importância para piscicultura, mas pouco se conhece sobre os efeitos dos aditivos fitogênicos nesta espécie. Entre os aditivos, o manjeriço (*O. basilicum*) tem apresentado resultados interessantes em algumas espécies de peixes, melhorando o desempenho produtivo e atuando como anestésico, mas há poucas informações com este aditivo incorporado na dieta em espécies Neotropicais Sul-americanas.

Capítulo I

1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.1.Contexto da Piscicultura

A produção total mundial de pescado, que consiste na pesca e aquicultura, segundo dados da FAO (2022), foi de cerca de 178 milhões de toneladas em 2020, sendo que 51% representam a pesca de captura (90 milhões de toneladas) e 49% a aquicultura (88 milhões de toneladas). Além do consumo humano (157 milhões de toneladas - 89%), cerca de 20 milhões de toneladas (81%), foram direcionadas principalmente para a produção de farinha e óleo de peixe. O Brasil em 2020 apareceu em 13º lugar entre os maiores produtores de animais aquáticos e em 8º lugar em produção de aquicultura continental (Figura 1) (FAO, 2022).

A produção brasileira de peixes em 2023, teve um aumento de 3,1% em relação ao ano anterior, com uma produção de 887.029 toneladas de peixes de cultivo (Peixe Br, 2024). O incremento da aquicultura continental que tem se observado no Brasil nos últimos anos ocorre principalmente devido às características favoráveis que o país apresenta para a produção de peixes tais como: grande disponibilidade hídrica, clima favorável, espécies de bom desempenho zootécnico com grande interesse de mercado, além da disponibilidade de produção de grãos para a produção de ração (Brabo et al., 2016).

Como cenário mundial, o Brasil aparece em quarto lugar como o maior produtor de tilápia-do-Nilo (579.080 t; *Oreochromis niloticus*). Além desta espécie, somam-se a essa produção os peixes nativos (263.479 t) (Peixe Br, 2024), liderado principalmente pelo cultivo do tambaqui (109.798 t; *Colossoma macropomum*), além do cultivo de pacu (*Piaractus mesopotamicus*), pirapitinga (*Piaractus brachypomus*) e os híbridos destes peixes, sendo o tambaqui de maior produção entre os redondos e o segundo mais produzido, atrás apenas da tilápia-do-Nilo (IBGE, 2023) (Figura 2).

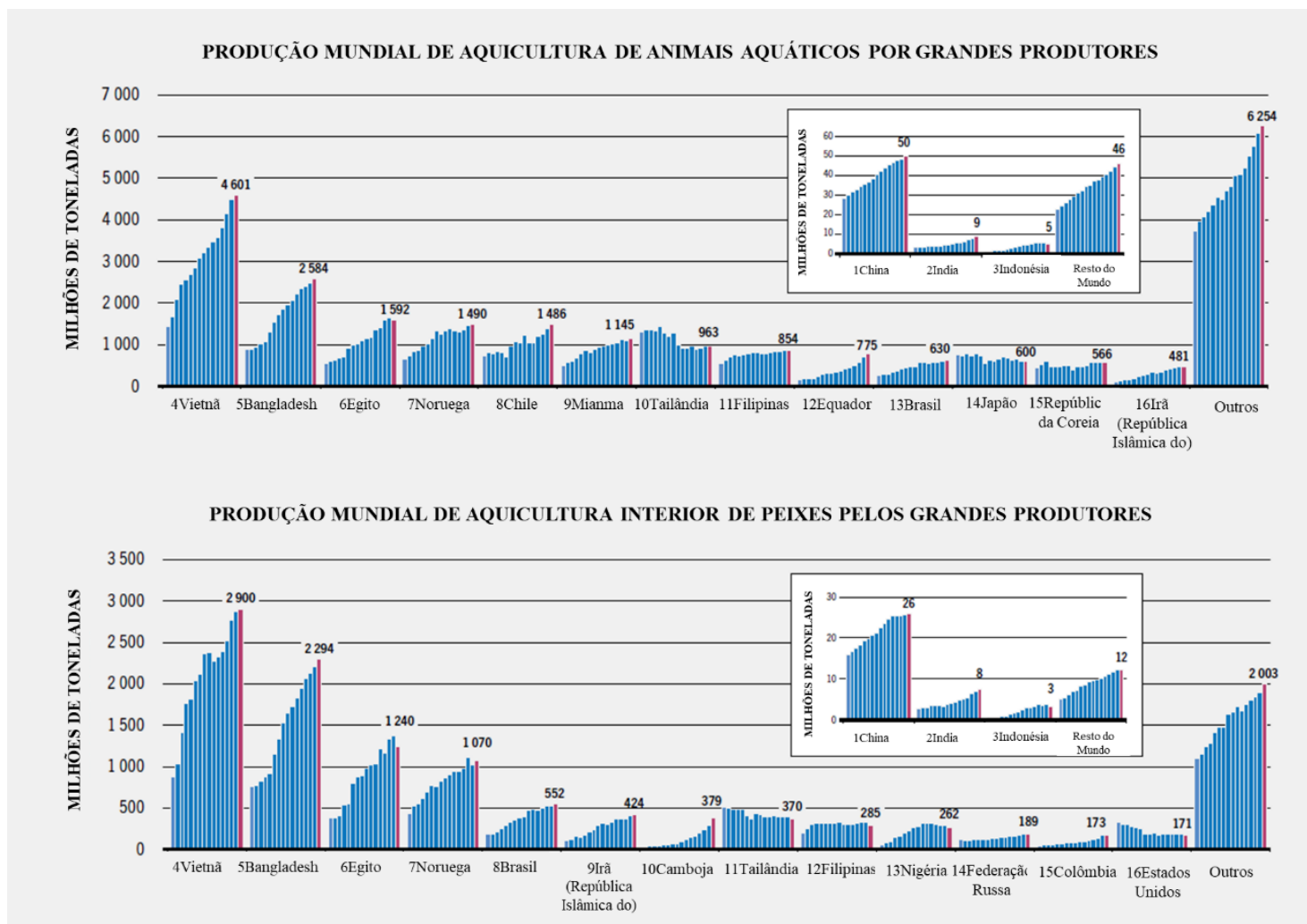


Figura 1. Posição do Brasil na produção mundial (Posição país) de animais aquáticos e na produção de peixes em águas continentais em 2020 (Adaptado de FAO, 2022).

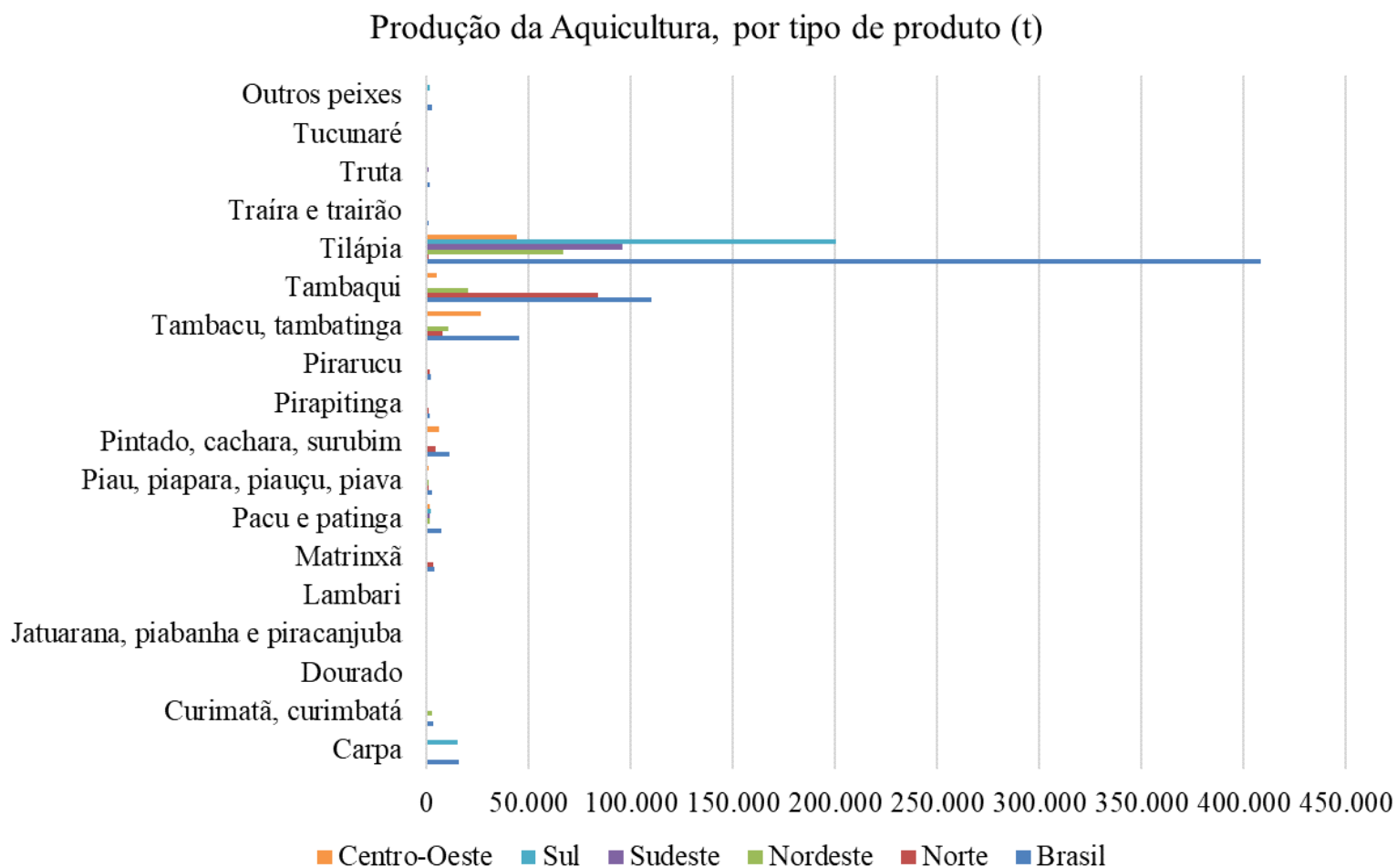


Figura 2. Produção da aquicultura em 2022 por tipo de produto. (Adaptado de IBGE – Pesquisa da Pecuária Municipal, 2022).

Os peixes de cultivo representam a maioria da produção de peixes consumidos no Brasil. Dentre os principais produtores de peixes de cultivo, encontram-se o estado do Paraná, com a liderança na produção de tilápia-do-Nilo (209.500 t), e o estado de Rondônia, com a produção de peixes nativos, liderado pela produção de tambaqui (56.500 t) (Peixe Br, 2024). Segundo o IBGE (2023), a produção dos peixes pertencentes ao chamado grupo de “peixes redondos”, representou cerca de 163 mil toneladas em 2022, liderada principalmente pelo tambaqui (109.798 t), pacu e patinga (7.318 t), pirapitinga (1.411 t) e seus híbridos tambacu e tambatinga (45.192 t) (Tabela 1).

Tabela 1. Produção da aquicultura de espécies nativas, por tipo de produto ano 2022.

Regiões	Produção da piscicultura de espécies nativas (t)			
	Tambaqui	Pacu e Patinga	Pirapitinga	Tambacu e Tambatinga
Norte	84.185	439,11	1.052	7.837
Nordeste	20.509	1.684	22.88	10.469
Sudeste	401,56	1.612	138.34	349,21
Sul	9,456	1.934	-	183,99
Centro-Oeste	4.693	1.649	198.11	26.353
Brasil (total)	109.798	7.318	1.411	45.192

Fonte: adaptado de IBGE, disponível em <https://sidra.ibge.gov.br/Tabela/3940#resultado>. -: não registrado.

A espécie pacu (*P. mesopotamicus*) tem sido utilizado como modelo em diversos estudos, principalmente considerando o grande potencial de cultivo em diversos sistemas de produção. Entre os estudos, cabe destacar a importância de pesquisa com anestésicos naturais, como mentol, eugenol (Gonçalves et al., 2008; Rotili et al., 2012; Sanchez et al., 2014) e óleos essenciais de *Lippia sidoides*, e *Ocimum basilicum* (Ventura et al., 2019; Ventura et al., 2023), pois são importantes para a produção, manejo e transporte adequado para os peixes.

1.2. Espécie estudada Pacu (*Piaractus mesopotamicus*)

Entre os peixes nativos de grande importância na produção nacional, aparece o pacu (*P. mesopotamicus*), pertence à família Characidae e subfamília Myleinae, representada por peixes herbívoros (Machado-Allison, 1982). Tem sua origem na Bacia do Prata (Figura 3), que abrange partes do Brasil, Paraguai, Uruguai e Argentina, sendo encontrado nos rios Paraná, Paraguai e Uruguai (Godoy, 1975; Saint-Paul, 1986).

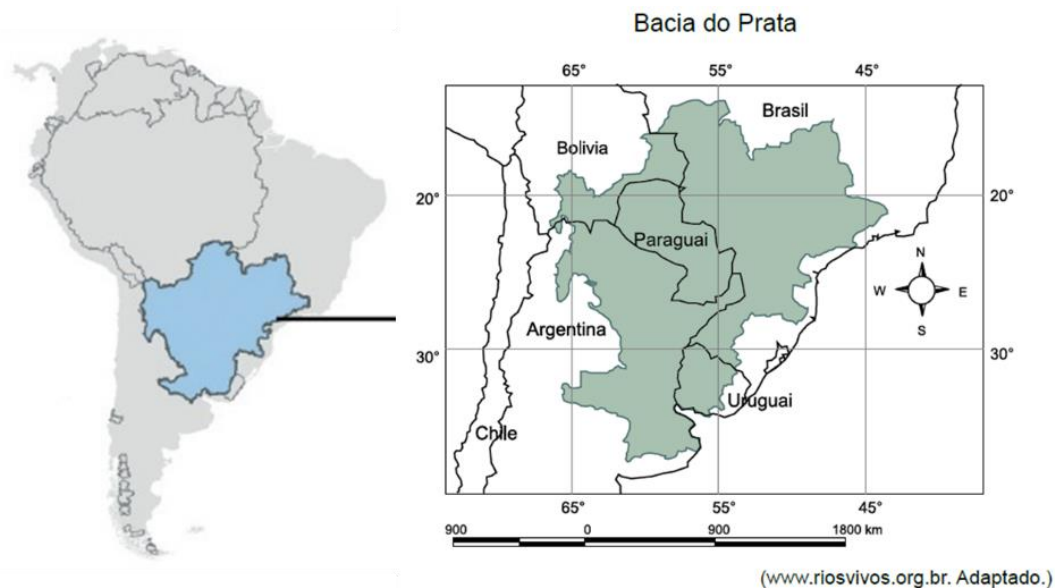


Figura 3. Localização geográfica da Bacia Hidrográfica do Prata. Fonte adaptada de: <https://ecoa.org.br/agua/bacia-do-rio-da-prata/>

Conhecido por pertencer ao grupo de “peixes redondos”, o pacu pode ser encontrado por outros nomes como, pacu-caranha, caranha ou pacu-guaçu, possui grande valor econômico principalmente no Pantanal do Mato Grosso e Mato Grosso do Sul, além de ser um dos peixes mais estudados da região Neotropical (Petreire, 1989), o pacu apresenta como características importantes para o cultivo a fácil adaptação, rápido crescimento e boa aceitação pelo mercado consumidor (Jomori et al., 2005; Urbinati e Gonçalves 2013; Ventura et al., 2019). A produção desse peixe juntamente com o híbrido, a patinga (*P. mesopotamicus* ♀ x *P. brachypomus* ♂), representam cerca de 7.318 toneladas em 2022 (IBGE, 2023) (Figura 4).



Figura 4. Juvenil de pacu *Piaractus mesopotamicus* (57,26 g e 13,8 cm). Imagem: Louise Spica.

O pacu, em seu habitat natural, apresenta hábito alimentar considerado migratória e de hábito alimentar onívoro (Souza et al., 2003), com sua alimentação totalmente

dependente da sazonalidade e disponibilidade de alimentos, se alimentando de folhas, frutos, sementes, flores e caule, além de, insetos crustáceos, moluscos e peixes, podendo sofrer influência do processo de migração para a reprodução; períodos em que há alta ingestão de carboidratos para armazenamento e reaproveitamento de energia (Bicudo, Abimorad e Carneiro, 2013). É uma espécie que apresenta sua zona de conforto térmico entre 28 e 30°C (Carneiro, 1990); contudo, por apresentar grande distribuição em diferentes regiões de clima temperado, pode tolerar temperaturas mais baixas (Milstein et al., 2000).

O pacu é uma espécie Neotropical de grande interesse comercial devido seu potencial zootécnico, tais como, rápido crescimento e fácil adaptação a alimentação artificial (Urbinati e Gonçalves 2013); possui grande capacidade de aproveitar de forma eficiente os nutrientes da dieta, simplificando assim o processo de formulação de dietas (Bicudo, Abimorad e Carneiro, 2013). Além disso, tem boa aceitação pelos consumidores por apresentar carne de excelente qualidade (Urbinati e Gonçalves 2013; Ventura et al., 2021). Apresenta também, grande capacidade de se adaptar a diferentes sistemas de produção, e por isso vem sendo utilizado como modelo de estudos em pesquisas (Ventura et al., 2021), relacionados ao uso de aditivos naturais como anestésicos naturais.

1.3.Uso de aditivos na alimentação de peixes

Na aquicultura, a utilização dos aditivos tem como objetivo aumentar a eficiência alimentar e desempenho de crescimento, além de também melhorar o desempenho sanitário dos peixes (Yadav et al., 2021). Para acompanhar o crescimento da aquicultura, é crucial aprimorar as tecnologias de criação, investigar novos aditivos e suplementos alimentares que garantam o sucesso da produção com uma dieta de baixo custo, com ingredientes de qualidade utilizados durante a formulação, garantindo uma boa qualidade nutricional das rações (Bharathi et al., 2019).

A Instrução Normativa do Ministério da Agricultura e Pecuária – MAPA, número 13 de 30 de novembro de 2004, regulamenta o uso de aditivos e os classificam como: aditivos tecnológicos, sensoriais, nutricionais, zootécnicos e anticoccidianos (Iwashita et al., 2014). Nesse sentido, esses aditivos são por definição, ingredientes que adicionados as rações visam melhorar a qualidade, bem como, a eficiência alimentar dos peixes, além de tornar a ração mais atrativa, palatável e digerível (Yadav et al., 2021). Esses aditivos também são utilizados como materiais aglutinantes para melhorar a estabilidade das rações, evitando assim que o péletes se desintegrem tão rapidamente na coluna d'água

(Dawood et al., 2018).

Dentre os grupos de aditivos que são utilizados na aquicultura, o grupo de aditivos fitogênicos tem chamado grande atenção quanto aos efeitos no desempenho produtivo e como potencial anestésico. Estes aditivos compreendem uma ampla variedade de ervas, especiarias e produtos derivados de óleos essenciais e extratos (Windisch et al., 2008; Pearce e Jin, 2010). De origem natural, extraídos de plantas, os extratos e óleos essenciais demonstram ser bastante promissores na utilização como aditivos na alimentação, contribuindo e apresentando resultados satisfatórios como agentes promotores de crescimento (Acar et al., 2015; Sutili et al., 2018; Zargar et al., 2019; Souza et al., 2019); ação antioxidante (Lee et al., 2005); antimicrobianos (Moghaddam et al., 2011; De Souza et al., 2018); e na saúde como agente anestésico (Ventura et al., 2020); além disso, melhora a aparência dos grãos de ração já extrusada diminuindo a quantidade de finos (pó) (Moreira et al., 2015) e também são produtos de fácil manejo no momento de incorporação nas rações (Hai, 2015).

A inclusão de um novo produto em uma ração já preparada (ração comercial) gera menos custos ao produtor, já que a sua fabricação é uma atividade que demanda o uso de aditivos aglutinantes artificiais de alto valor de mercado (Karim et al., 2021). Como alternativa para a incorporação de aditivos nas rações utiliza-se a incorporação manual, de forma viável e mais econômica, por meio de mistura quando o aditivo é em pó, ou por aspersão quando se trata de óleos essenciais (Dairiki et al., 2013). Nesse sentido, as ervas aromáticas como o manjericão (*O. basilicum*) vem sendo utilizadas como objeto de estudo como um novo anestésico natural e incorporado às dietas para estudos visando a suplementação dietética dos peixes.

1.4. Manjericão *Ocimum basilicum*

O manjericão pertence ao gênero *Ocimum*, e à espécie *Ocimum basilicum* é a mais cultivada comercialmente em virtude de suas folhas verdes e aromáticas que podem ser usadas frescas ou secas como condimento, ou para obtenção de óleo essencial e extratos (Marotti et al., 1996; Loughrin e Kasperbauer, 2001). Esta planta pertence à família Lamiaceae, podendo ser encontrado na Ásia Tropical, África, América Central e América do Sul, compreendendo de 50 a 150 espécies (Machado et al., 2011). A espécie *O. basilicum* possui propriedades anestésicas e sedativas, e efeitos positivos para a saúde em diversas espécies de peixes (Hoseini et al., 2019). Estas propriedades podem ser atribuídas aos seus compostos voláteis incluindo linalol, metil chavicol, eugenol,

bergamoteno e metil cinamato (Klimankova et al., 2008; Sonmezdag et al., 2018).

Devido às suas propriedades importantes, o manjeriço *O. basilicum* tem sido utilizado de diferentes formas na aquicultura. A tabela 2 apresenta alguns estudos utilizando manjeriço em diferentes formas e em diferentes espécies de peixes. Na maioria dos estudos o manjeriço tem sido utilizado como óleo essencial para efeitos de indução a anestesia e sedação, para manejos biométricos e transporte, por possuir propriedades que produzem esses efeitos nos peixes, diminuindo as respostas secundárias de estresse na realização dos manejos rotineiros que são realizados nas pisciculturas.

Tabela 2. Uso de manjeriço *Ocimum basilicum* como óleo essencial em diferentes espécies de peixes.

Espécie/ Autor	Dose	Utilização	Resultado principal
<i>C. macropomum</i> Ventura et al., 2021	400, 500, 600, 700, 800, 900, e 1000 $\mu\text{L L}^{-1}$	Indução e recuperação anestésica	1000 $\mu\text{L L}^{-1}$ resultou em menor tempo de indução; o tempo de recuperação não diferiu.
<i>Danio rerio</i> Capparucci et al., 2022	50, 100 e 200 $\mu\text{l L}^{-1}$	Desenvolvimento de embriões	A exposição ao óleo essencial promoveu atraso na taxa de eclosão, deformidades e mortalidade das larvas.
<i>O. mykiss</i> Ygit et al., 2022	20, 50, 70, 100, 150, 200, 300, 400, 500, e 600 mg L^{-1}	Anestésico	300 mg L^{-1} apresentou melhores resultados como dose anestésica sem causar efeitos tóxicos ou danos histopatológicos
<i>O. niloticus</i> Limma-Netto et al., 2017	10, 25, 50, 100, 200, 400 e 600 $\mu\text{L L}^{-1}$	Sedativo e anestésico	400 $\mu\text{L L}^{-1}$ promoveu melhor tempo de indução e recuperação anestésica.
<i>O. niloticus</i> Ventura et al., 2020	20 $\mu\text{L L}^{-1}$	Transporte – 2 horas	Principal componente: metil chavicol; a dose apresentou potencial sedativo seguro.
<i>P. mesopotamicus</i> Ventura et al., 2021	100, 350 e 600 mg L^{-1}	Indução anestésica	As concentrações avaliadas não promoveram a mitigação do estresse nos peixes.
<i>P. mesopotamicus</i> Ventura et al., 2023	150, 180, 210, 240, 270 e 300 mg L^{-1}	Atividade anestésica e depleção de seus principais	300 mg L^{-1} promoveu menor tempo de indução anestésica. Os componentes metil chavicol e linalol foram quantificados nos tecidos amostrados.

	compostos em diferentes tecidos		
¹ Híbrido Tambacu Limma-Netto et al., 2016	0, 10, 25, 50, 100, 200 e 300 $\mu\text{L L}^{-1}$	Anestesia, sedação e recuperação	10 e 25 $\mu\text{L L}^{-1}$ promoveu menores tempos de indução e recuperação anestésica.

¹(*P. mesopotamicus* ♂ x *C. macropomum* ♀)

O uso do manjeriço como suplementação na alimentação de peixes foram relatados em alguns estudos realizados por Amirkhani e Firouzbakhsh (2015); De Souza et al., (2019); Chung et al., (2020); Shavsavani et al., (2021); Rahman et al., (2022); Mansour et al., (2023). Estes autores descrevem que o uso do manjeriço tem resultado favoráveis no desempenho zootécnico, na modulação intestinal, na taxa de sobrevivência e na melhora no sistema antioxidante (Tabela 3).

Tabela 3. Uso de manjeriço *Ocimum basilicum* como suplementação em diferentes espécies de peixes.

Espécie	Forma	Dose	Período	Resultado principal
<i>Arapaima gigas</i> Chung et al., 2020	Óleo essencial	0,5; 1,0; e 2,0 mL kg^{-1}	48 dias; desafio de estresse por densidade de estocagem elevada	Principal constituinte: linalol; 2 mL kg^{-1} apresenta melhores resultados no desempenho zootécnico.
<i>Cyprinus carpio</i> Shahsavani et al., 2021	Pó (folhas)	2%, 4% e 6% de pó	60 dias	6% é mais eficaz em melhorar o sistema antioxidante e atenuar os biomarcadores redox lipídicos e proteicos.
<i>Cyprinus carpio</i> Amirkhani e Firouzbakhsh, 2015	Extrato das folhas	100, 200, 400, 800 e 1600 mg kg^{-1}	60 dias; desafio por <i>A. hydrophila</i>	400 mg kg^{-1} melhora o desempenho e taxa de sobrevivência e resistência à infecção por <i>A. hydrophila</i>
<i>O. niloticus</i> Mansour et al., 2023	Extrato etanólico e aquoso	200, 300, e 500 mg kg^{-1}	8 semanas	Extrato etanólico na dose de 500 mg kg^{-1} demonstrou ser mais eficiente na promoção do desempenho de crescimento.
<i>O. niloticus</i> Rahman et al., 2022	Nano compósito de quitosana	1 g [COBN1], 2 g [COBN2], e 3 g	60 dias	2 g [COBN2] kg^{-1} demonstrou melhores resultados no desempenho e modulação intestinal.

	+ Óleo essencial	[COBN3] kg ⁻¹		
<i>O. niloticus</i> De Souza et al., 2019	Óleo essencial	0,25; 0,5; 1,0 e 2,0 mL kg ⁻¹	45 dias; desafio por <i>A. hydrophila</i>	1,0 mL kg ⁻¹ é mais eficiente como aditivo alimentar por não causar danos hepáticos.
<i>Sparus aurata</i> El-Dakar et al., 2015	Folhas e sementes; sementes seca e embebidas	2% de ¹ FMS; 2% de SMS; 2% de SMES	84 dias	As dietas promoveram melhorias no crescimento na utilização de alimentos e nas enzimas digestivas.
² Tilápia híbrida El-Dakar et al., 2008	Folhas secas	0; 0,5; 1,0 e 2,0%	112 dias	2% proporcionou melhoria no desempenho dos peixes.

¹FMS: Folhas de manjeriçao secas; SMS: sementes de manjeriçao secas; SMES: sementes de manjeriçao embebidas e secas. ²*O. niloticus* x *O. aureus*.

Os estudos que relatam o uso de manjeriçao como fonte de suplementaçao alimentar, apresentam resultados bem diferentes entre as espécies em que foi utilizado, indicando que a açao dos compostos presentes no manjeriçao é dependente da forma como a espécie de peixe metaboliza esse produto em seu organismo, podendo ou não trazer benefícios que estão relacionados à presença dos compostos que possam promover o desempenho dos peixes.

O efeito da utilização do manjeriçao é influenciado pela forma como a espécie de peixe o absorve, gerando resultados distintos como os observados nos estudos realizados por Limma-Netto et al., (2016) e Ventura et al., (2021). No estudo utilizando a espécie híbrida tambacu (*P. mesopotamicus* ♂ x *C. macropomum* ♀), Limma-Netto et al. (2016), observaram que o efeito anestésico do óleo essencial (Tabela 2) foi proporcionado utilizando concentrações entre 10 e 20 µL L⁻¹ que promoveu menores tempos de indução e recuperação. Em contrapartida, em estudo realizado por Ventura et al. (2021), utilizando concentrações de óleo essencial de 100, 350 e 600 mg L⁻¹ em pacu (*P. mesopotamicus*) para a indução anestésica, observaram que essas concentrações não promoveram a mitigação do estresse nessa espécie. Ou seja, a aplicabilidade do manjeriçao como um produto natural pode oferecer diferentes resultados de acordo com o modo como é utilizado, a concentração ministrada, a espécie de peixe utilizada, assim como o tempo e a forma em que é fornecido aos peixes.

Os estudos realizados utilizando o manjeriçao em espécies nativas de peixes, conforme mencionado anteriormente, foram descritos principalmente em função do seu uso como agente anestésico. Embora o manjeriçao tenha revelado propriedades benéficas que promovam o desempenho de crescimento dos peixes, esses estudos foram relatados

utilizando espécies como a tilápia-do-Nilo (*O. niloticus*), tilápia híbrida (*O. niloticus* x *O. aureus*), carpa comum (*Cyprinus carpio*) e pirarucu (*Arapaima gigas*) (Tabela 3). Entretanto, não se tem estudos utilizando o manjeriço como suplementação na dieta de peixes nativos redondos. Nesse sentido, destaca-se a necessidade de mais estudos adicionais com essas espécies nativas de valor comercial, como o pacu, que até o momento não há evidências científicas que explorem a viabilidade e os benefícios da inclusão de manjeriço na dieta do pacu.

1.5. Estresse no transporte de peixes

Durante o ciclo produtivo, os peixes enfrentam diversos fatores que podem ocasionar estresse. Um dos procedimentos rotineiros que promove o estresse nos peixes é o transporte, que pode afetar a fisiologia e a sobrevivência desses peixes. O estresse é uma condição em que o animal não consegue manter a homeostase do organismo, e assim resulta em ações estressoras (Ports et al., 2006; Harmon, 2009).

O transporte de peixes é uma prática essencial na aquicultura, podendo ser realizado em caixas de transporte ou em sacos plásticos inflados com oxigênio (Boaventura et al., 2021). No entanto, esse procedimento pode aumentar a respiração, e a excreção de amônia e também deteriorar a qualidade da água durante o transporte (Ross et al., 2009; Shrivastava et al., 2017) ocasionando o estresse nos peixes.

Nesse sentido, para diminuir os efeitos causados pelo estresse nos peixes, são utilizados produtos como extratos vegetais, que possuem efeitos sedativos que possam diminuir o metabolismo dos peixes e conseqüentemente reduzir o consumo de oxigênio e excreção de amônia, e preservar a qualidade da água e garantir o bem-estar animal (Boaventura et al., 2021).

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Avaliar os efeitos da incorporação de manjeriçãõ (*Ocimum basilicum*) em ração extrusada no desempenho produtivo, na morfologia intestinal, no resíduo muscular e nas alterações hematológicas após estresse de transporte simulado de pacu (*Piaractus mesopotamicus*).

2.2. Objetivos Específicos

a) Avaliar o efeito da incorporação de manjeriçãõ (*O. basilicum*) como suplementação na dieta com óleo essencial e extrato aquoso sobre o desempenho zootécnico de pacu;

b) Avaliar o efeito da incorporação de manjeriçãõ (*O. basilicum*) como suplementação na dieta com óleo essencial e extrato aquoso, sobre parâmetros bioquímicos, hematológicos e na histologia intestinal de pacu;

c) Avaliar o efeito da incorporação de manjeriçãõ (*O. basilicum*) como suplementação na dieta com óleo essencial e extrato aquoso, em função de desafio por estresse de transporte simulado em pacu.

3. REFERENCIAS

ACAR, U., KESBIÇ, O.S., YILMAZ, S., GÜLTEPE, N., TÜRKER, A. 2015. Evaluation of the effects of essential oil extracted from sweet orange peel (*Citrus sinensis*) on growth rate of tilapia (*Oreochromis mossambicus*) and possible disease resistance against *Streptococcus iniae*. **Aquaculture**, 437, 282–286.

<https://doi.org/10.1016/J.AQUACULTURE.2014.12.015>

AHMADIFAR, E., YOUSEFI, M., KARIMI, M., FADAEI RAIENI, R., DADAR, M., YILMAZ, S., DAWOOD, M.A.O., ABDEL-LATIF, H.M.R. 2021. Benefits of Dietary Polyphenols and Polyphenol-Rich Additives to Aquatic Animal Health: An Overview. **Reviews in Fisheries Science & Aquaculture**, 29, 478–511.

<https://doi.org/10.1080/23308249.2020.1818689>

AL-HAMDANI, Q.H., AL-DUBAKEL, A.Y., MUHAMMAD, A.A. 2021. Mucilage extraction from basil (*Ocimum basilicum*) and its applications in the diets of *Cyprinus carpio* fingerlings. **Biological Applied Environmental Research**, 5 (1), 86–97.

<https://doi.org/10.51304/baer.2021.5.1.86>

AMIRKHANI, N., FIROUZBAKHS, F. 2015. Protective effects of basil (*Ocimum basilicum*) ethanolic extract supplementation diets against experimental *Aeromonas hydrophila* infection in common carp (*Cyprinus carpio*). **Aquaculture Research**, 46, 716–724. <https://doi.org/10.1111/are.12217>

BHARATHI, S., ANTONY, C., RAJAGOPALASAMY, C.B.T., UMA, A., AHILAN, B., AANAND, S., 2019. Functional feed additives used in fish feeds. **International Journal Fisheries and Aquatic Studies**, 7, 44–52.

BICUDO, A.J.A., ABIMORAD, E.G., CARNEIRO, D.J. 2013. **Exigências nutricionais e Alimentação do Pacu**, in: Nutriaqua: nutrição e alimentação de espécies de interesse para a aquicultura brasileira. 1ª edição ampliada. Florianópolis: Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia Aquática, xxiii, p. 375

BOAVENTURA, T.P., SOUZA, C.F., FERREIRA, A.L., FAVERO, G.C., BALDISSERA, M.D., HEINZMANN, B.M., BALDISSEROTTO, B., LUZ, RONALD K. 2021. The use of *Ocimum gratissimum* L. essential oil during the transport of *Lophiosilurus alexandri*: Water quality, hematology, blood biochemistry and oxidative stress. **Aquaculture**, v. 531. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735964>

BRABO, M.F., PEREIRA, L.F.S., SANTANA, J.V.M., CAMPELO, D.A. V., VERAS, G.C. 2016. Cenário atual da produção de pescado no mundo, no Brasil e no estado do Pará: ênfase na aquicultura. **Acta of Fisheries and Aquatic Resources.**, 4, 50–58. <https://doi.org/10.2312/ActaFish.2016.4.2.50-58>

CAPPARUCCI, F., DE BENEDETTO, G., NATALE, S., PECORARO, R., IARIA, C., MARINO, F. 2022. Evaluation of Anaesthetic Effect of Commercial Basil *Ocimum basilicum* on Zebrafish (*Danio rerio*) Embryos. **Fishes**, 7, 1–9. <https://doi.org/10.3390/fishes7060318>

CARNEIRO, D.J., 1990. **Efeito da temperatura na exigência de proteína e energia em dietas para alevinos de pacu *Piaractus mesopotamicus* (Holdenbergh, 1987)**. Tese

(Doutorado), Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP, Brasil.

CHUNG, S., LEMOS, C.H.D.P., TEIXEIRA, D. V., FORTES-SILVA, R., COPATTI, C.E. 2020. Essential oil from *Ocimum basilicum* improves growth performance and does not alter biochemical variables related to stress in pirarucu (*Arapaima gigas*). **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, 92, 1–11. <https://doi.org/10.1590/0001-3765202020181374>

DAIRIKI, J.K., MAJOLO, C., CHAGAS, E.C., CHAVES, F.C.M., OLIVEIRA, M.R. DE, MORAIS, I. S. 2013. **Procedimento para Inclusão de Óleos Essenciais em Rações para Peixes**. Manaus, AM, EMBRAPA, (Circ. Técnica 8).

DAWOOD, M.A.O., KOSHIO, S., ESTEBAN, M.Á. 2018. Beneficial roles of feed additives as immunostimulants in aquaculture: a review. **Reviews in Aquaculture**, 10, 950–974. <https://doi.org/10.1111/raq.12209>

DAWOOD, M.A.O., EL BASUINI, M.F., YILMAZ, S., ABDEL-LATIF, H.M.R., ALAGAWANY, M., KARI, Z.A., RAZAB, M.K.A.A., HAMID, N.K.A., MOONMANEE, T., DOAN, H. VAN. 2022. Exploring the Roles of Dietary Herbal Essential Oils in Aquaculture: A Review. **Animals**, 12, 1–19. <https://doi.org/10.3390/ani12070823>

DE SOUZA, E.M., DE SOUZA, R.C., MELO, J.F.B., DA COSTA, M.M., DE SOUZA, A.M., COPATTI, C.E., 2019. Evaluation of the effects of *Ocimum basilicum* essential oil in Nile tilapia diet: growth, biochemical, intestinal enzymes, haematology, lysozyme and antimicrobial challenges. **Aquaculture**, 504, 7–12. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.01.052>

EL-DAKAR, A., HASSANIEN, G., GAD, S., SAKR, S. 2008. Use of Dried Basil Leaves as a Feeding Attractant for Hybrid Tilapia, *Oreochromis niloticus* x *Oreochromis aureus*, Fingerlings. **Mediterranean Aquaculture Journal**, 1, 35–44. <https://doi.org/10.21608/maj.2008.2662>

EL-DAKAR, A.Y., SHALABY, S.M., NEMETALLAH, B.R., SALEH, N.E., SAKR, E.M., TOUTOU, M.M. 2015. Possibility of using basil (*Ocimum basilicum*) supplementation in Gilthead sea bream (*Sparus aurata*) diet. **The Egyptian Journal of Aquatic Research.**, 41, 203–210. <https://doi.org/10.1016/j.ejar.2015.03.001>

FAO. 2022. **The State of World Fisheries and Aquaculture 2022**. Towards Blue Transformation. Rome, FAO. <https://doi.org/10.4060/cc0461en>

GODOY, M.P. 1975. **Peixes do Brasil: subordem Characoidei: bacia do rio Mogi-Guassu**. Piracicaba: Franciscana. p. 216.

GONÇALVES, A.F.N., SANTOS, E.C.C., FERNANDES, J.B.K., TAKAHASHI, L.S. 2008. Mentol e eugenol como substitutos da benzocaína na indução anestésica de juvenis de pacu. **Acta Scientiarum Animal Science**, v. 30, p. 339-344. <https://doi.org/10.4025/actascianimsci.v30i3.1081>

HAI, N.V. 2015. The use of medicinal plants as immunostimulants in aquaculture: A review. **Aquaculture**, v. 446, p. 88-96. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.03.014>

HARMON, T.S. 2009. Methods for reducing stressors and maintaining water quality associated with live fish transport in tanks: a review of the basics. **Reviews in Aquaculture**, v. 1, p. 58–66.

HOSEINI, S.M., TAHERI MIRGHAED, A., YOUSEFI, M. 2019. Application of herbal an aesthetics in aquaculture. **Reviews in Aquaculture**, 11, 550–564. <https://doi.org/10.1111/raq.12245>

IBGE, 2023. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE. **Tabela 3940 – Produção da aquicultura ano 2002**. Disponível em : < <https://sidra.ibge.gov.br/Tabela/3940#resultado> > Acesso em: 24 de dezembro de 2023.

IWASHITA, K.P., MORO, G.V., NAKANDAKARE, I.B. 2014. **Incorporação de aditivos na ração de peixes**. Palmas, TO, EMBRAPA, (Circular Técnica-Embrapa).

JOMORI, R.K., CARNEIRO, D.J., MARTINS, M.I.E.G., PORTELLA, M.C. 2005. Economic evaluation of *Piaractus mesopotamicus* juvenile production in different rearing systems. **Aquaculture**, 243, 175–183. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2004.09.034>

KARIM, A., NAILA, B., KHWAJA, S., HUSSAIN, S.I., GHAFAR, M. 2024. Evaluation of different Starch Binders on physical quality of fish feed pellets. **Brazilian Journal of Biology**, 84, 1–5. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.256242>

KLIMÁNKOVÁ, E., HOLADOVÁ, K., HAJŠLOVÁ, J., ČAJKA, T., POUSTKA, J., KOUDELA, M. 2008. Aroma profiles of five basil (*Ocimum basilicum* L.) cultivars grown under conventional and organic conditions. **Food Chemistry**, 107, 464–472. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.07.062>

LEE, S.J., UMANO, K., SHIBAMOTO, T., LEE, K.G. 2005. Identification of volatile components in basil (*Ocimum basilicum* L.) and thyme leaves (*Thymus vulgaris* L.) and their antioxidant properties. **Food Chemistry**, 91, 131–137. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.05.056>

LIEKE, T., MEINELT, T., HOSEINIFAR, S.H., PAN, B., STRAUS, D.L., STEINBERG, C.E.W. 2020. Sustainable aquaculture requires environmental-friendly treatment strategies for fish diseases. **Reviews in Aquaculture**, 12, 943–965. <https://doi.org/10.1111/raq.12365>

LIMMA-NETTO, J.D., SENA, A.C., COPATTI, C.E. 2016. Óleos essenciais de *Ocimum basilicum* e *Cymbopogon flexuosus* na sedação, anestesia e recuperação de tambacu (*Piaractus mesopotamicus* macho x *Colossoma macropomum* fêmea). **Boletim do Instituto de Pesca**, 42, 727–733. <https://doi.org/10.20950/1678-2305.2016v42n3p727>

LIMMA NETTO, J.D., OLIVEIRA, R.S.M. COPATTI, C.E. 2017. Efficiency of essential oils of *Ocimum basilicum* and *Cymbopogum flexuosus* in the sedation and anaesthesia of Nile tilapia juveniles. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, 89(4): 2971-2974. <http://dx.doi.org/10.1590/0001-3765201720170001>

LOUGHRIN, J.H., KASPERBAUER, M.J.L. 2001. Light reflected from colored mulches affects aroma and phenolic content of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.) leaves. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, 49, 3, 1331-1335. <https://doi.org/10.1021/jf0012648>

MACHADO, F.M.V.F., BARBALHO, S.M., DA SILVA, T.H.P., DOS SANTOS RODRIGUES, J., GUIGUER, E.L., DOS SANTOS BUENO, P.C., SOUZA, M. DA S.S., DIAS, L.S.B., WIRTTIJORGE, M.T., PEREIRA, D.G. 2011. Efeitos do uso de manjeriço (*Ocimum basilicum* L.) no perfil bioquímico de ratos Wistar. **Journal of the Health Sciences Institute**, 29, 191–194.

MACHADO-ALLISON, A. 1982. Estúdio sobre la subfamília Serrassalminae (Teleostei, Characidae). Parte 1. Estúdio comparado de los juveniles de las cachamas de Venezuela (Géneros Colossoma y Piaractus). **Acta Biologica Venezuelica**, 11: 1-101.

MANSOUR, A.T., DIAB, A.M., KHALIL, R.H., ELDESSOUKI, E.A., EL-SABBAGH, N., ELSAMANNOUDY, S.I., YOUNIS, N.A. 2023. Physiological and immunological responses of Nile tilapia fed dietary supplementation of sweet basil ethanolic and aqueous extracts. **Frontiers Marine Science**, 9, 1–12.
<https://doi.org/10.3389/fmars.2022.1064455>

MAROTTI M, PICAGLIA R, GIOVANELLI, E. 1996. Differences in essential oil composition of basil (*Ocimum basilicum* L) Italian cultivars related to morphological characteristics. **Journal Agricultura Food Chemistry**, 44:12. p.3926-9.

MILSTEIN A., M. ZORAN, Y, PERETZ, D. JOSEPH. 2000. Low temperature tolerance of pacu, *Piaractus mesopotamicus*. **Environmental Biology of Fishes**, 58: 455-460.

MOGHADDAM, A.M.D., SHAYEGH, J., MIKAILI, P., SHARAF, J.D. 2011. Antimicrobial activity of essential oil extract of *Ocimum basilicum* L. leaves on a variety of pathogenic bacteria. **Journal Medicinal Plants Research**, 5, 3453–3456.

MOREIRA, A.G.L., COELHO, A.A.C., ALBUQUERQUE, L.F.G., MOREIRA, R.T., FARIAS, W.R.L. 2015. Eugenol effect as a mitigate agent of stress in transport of Nile tilapia juveniles. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, 35, 893–898.

PEARCE, M.E.; JIN, G.L.Z. 2010. Aditivos Fitogênicos. **Porkworld**, 58,1, p. 128-136.

PEIXEBR. 2024 **Anuário Brasileiro da Piscicultura Peixe BR 2023**. p. 65

PETRERE Jr, M. 1989. River fisheries in Brazil: a review. **Regulated Rivers: Research and Mngement**, 4: 1-16.

PORTZ, D.E., WOODLEY, C.M., CECH, J.J.JR. 2006. Stress-associated impacts of short-term holding on fishes, **Reviews in Fish Biology and Fisheries**, v. 16, p. 125-170.

RAHMAN, A.N., ELSHOPAKEY, G.E., BEHAIRY, A., ALTOHAMY, D.E., AHMED, A.I., FARROH, K.Y., ALKAFIFY, M., SHAHIN, S.A., IBRAHIM, R.E. 2022. Chitosan-*Ocimum basilicum* nanocomposite as a dietary additive in *Oreochromis niloticus*: Effects on immune-antioxidant response, head kidney gene expression, intestinal architecture, and growth. **Fish Shellfish Immunol.**, 128, 425–435.
<https://doi.org/10.1016/j.fsi.2022.08.020>

RODRIGUES, R.B., MELO, I.W. DE A., ROCHA, J.D.M., SILVA, T.C. DA BRIDI, V.R.C., FEIDEIN, A., BITTENCOURT, F., BOSCOLO, W.R. 2015. Eugenol como anestésico para alevinos de patinga (*Piaractus mesopotamicus* x *Piaractus brachyomus*). **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, 9, 634–644.

ROSS, L.G., ROSS, B., ROSS, B. 2009. **Anaesthetic and Sedative Techniques for Aquatic Animals**: Third Edition (3. ed.). <https://doi.org/10.1002/9781444302264>

ROTILI, D.A., DEVENS, M.A., DIEMER, O., LORENZ, E.K., LAZZARI, R., BOSCOLO, W.R. 2012. Uso de eugenol como anestésico em pacu. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 42, p. 288-294.

SAINT-PAUL, U. 1986. Potential for aquaculture of South American freshwater fishes: a review. **Aquaculture**, 54: 205-540.

SANCHEZ M.S. DOS S., RODRIGUES, R.A., NUNES, A.L., OLIVEIRA, A.M. DA S., FANTINI, L. E., CAMPOS, C.M. 2014. Efeito do mentol e eugenol sobre as respostas fisiológicas do pacu *Piaractus mesopotamicus*. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 35, p. 2799-2808.

SHAHSAVANI, D., BAGHSHANI, H., LAEIN, S.S. 2021. Influence of dietary basil (*Ocimum basilicum*) supplementation on growth performance, oxidative status biomarkers, and plasma biochemistry in common carp. **Comparative Clinical Pathology**, 30, 973–980. <https://doi.org/10.1007/s00580-021-03296-z>

SHRIVASTAVA, J., SINHA, A.K., CANNAERTS, S., BLUST, R., BOECK, G. 2017. Temporal assessment of metabolic rate, ammonia dynamics and ion-status in common carp during fasting: a promising approach for optimizing fasting episode prior to fish transportation. **Aquaculture**, 481, p. 218-228. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.09.008>

SONMEZDAG, A.S., AMANPOUR, A., KELEBEK, H., SELLI, S. 2018. The most aroma-active compounds in shade-dried aerial parts of basil obtained from Iran and Turkey. **Industrial Crops and Products**, 124, 692–698. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.08.053>

SOUZA, E.M. DE, SOUZA, R.C. DE, COSTA, M.M. DA, PINHEIRO, C.G., HEINZMANN, B.M., COPATTI, C.E., 2018. Composição química e avaliação da atividade antimicrobiana de dois óleos essenciais. **Boletim do Instituto de Pesca**, 44, 176–184. <https://doi.org/10.20950/1678-2305.2018.321>

SOUZA, V.L.; URBINATI, E.C.; MARTINS, M.I.E.G.; SILVA, P.C. 2003. Evaluation of the Growth and Feeding Costs of Pacu (*Piaractus mesopotamicus*) Submitted to Alternate Cycles of Feeding Restriction and Refeeding, **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 32, n. 1, p. 19–28.

SUTILI, F.J., GATLIN, D.M., HEINZMANN, B.M., BALDISSEROTTO, B. 2018. Plant essential oils as fish diet additives: benefits on fish health and stability in feed. **Reviews in Aquaculture**, 10, 716–726. <https://doi.org/10.1111/raq.12197>

TOLAY, I. 2021. The impact of different zinc (Zn) levels on growth and nutrient uptake of basil (*Ocimum basilicum* L.) grown under salinity stress. **PloS One**, 16 (2), e0246493. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0246493>

URBINATI, E.C., GONÇALVES, F.D. 2013. Pacu (*Piaractus mesopotamicus*), In: Baldisserotto, B.; Gomes, L.C. (Eds.), **Espécies nativas para piscicultura no Brasil**. UFMS, Santa Maria, 2013, Cap.8, p. 225-246.

VENTURA, A.S., CORRÊA FILHO, R.A.C., CARDOSO, C.A.L., STRINGHETTA, G.R., DE OLIVEIRA BRASILEIRO, L., RIBEIRO, J.S., PEREIRA, S.A., JERÔNIMO, G.T., POVH, J.A. 2023. *Ocimum basilicum* essential oil in pacu *Piaractus mesopotamicus*: anesthetic efficacy, distribution, and depletion in different tissues. **Veterinary Research Communications**. <https://doi.org/10.1007/s11259-023-10225-8>

VENTURA, A.S., DE CASTRO SILVA, T.S., ZANON, R.B., INOUE, L.A.K.A., CARDOSO, C.A.L. 2019. Physiological and pharmacokinetic responses in neotropical *Piaractus mesopotamicus* to the essential oil from *Lippia sidoides* (Verbenaceae) as an anesthetic. **International Aquatic Research**, 11, 1–12. <https://doi.org/10.1007/s40071-019-0215-z>

VENTURA, A.S., JERÔNIMO, G.T., CORRÊA FILHO, R.A.C., SOUZA, A.I., STRINGHETTA, G.R., CRUZ, M.G. DA, TORRES, G. DOS S., GONÇALVES, L.U., POVH, J.A. 2021. *Ocimum basilicum* essential oil as an anesthetic for tambaqui *Colossoma macropomum*: Hematological, biochemical, non-specific immune parameters and energy metabolism. **Aquaculture**, 533. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.736124>

VENTURA, A.S., JERÔNIMO, G.T., DE OLIVEIRA, S.N., DE ARAÚJO GABRIEL, A.M., CARDOSO, C.A.L., TEODORO, G.C., CORRÊA FILHO, R.A.C., POVH, J.A. 2020. Natural anesthetics in the transport of Nile tilapia: Hematological and biochemical responses and residual concentration in the fillet. **Aquaculture**, 526, 735365. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735365>

WINDISCH W, SCHEDLE K, PLITZNER C, KROISMAYR A. 2008. Use of phytogenic products as feed additives for swine and poultry. **Journal of Animal Science**, 86, 4, p. E140–E148. <https://doi.org/10.2527/jas.2007-0459>

YADAV, M.K., KHATI, A., CHAUHAN, R.S., ARYA, P., SEMWAL, A. 2021. A Review on Feed Additives used in Fish Diet. **International Journal of Environment Agriculture and Biotechnology**, 6, 184–190. <https://doi.org/10.22161/ijeab.62.21>

YIGIT, N.O., METIN, S., SABUNCU, O.F., DIDINEN, B.I., DIDINEN, H., OZMEN, O., KOSKAN, O. 2022. Efficiency of *Ocimum basilicum* and *Eucalyptus globulus* essential oils on anesthesia and histopathology of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. **Journal of World Aquatic Society**, 53, 1051–1061. <https://doi.org/10.1111/jwas.12911>

ZARGAR, A., RAHIMI-AFZAL, Z., SOLTANI, E., TAHERI MIRGHAED, A., EBRAHIMZADEH-MOUSAVI, H. A., SOLTANI, M., YUOSEFI, P. 2019. Growth performance, immune response and disease resistance of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed *Thymus vulgaris* essential oils. **Aquatic Research**, 50, 3097–3106. <https://doi.org/10.1111/are.14243>

Capítulo II

Suplementação com óleo essencial e extrato aquoso de manjeriço (*Ocimum basilicum*) na dieta de pacu (*Piaractus mesopotamicus*)

Artigo redigido nas normas do periódico Aquaculture.

Resumo

Objetivou-se com este estudo avaliar o desempenho produtivo, morfologia intestinal, resíduo muscular e alterações hematológicas após estresse de transporte simulado de pacu (*Piaractus mesopotamicus*) suplementado com manjeriço (*Ocimum basilicum*) na dieta. Foram utilizados três tratamentos: (i) dieta controle (sem incorporação de *O. basilicum*); (ii) 0,5% de óleo essencial de *O. basilicum* incorporado na dieta; (iii) 0,5% de extrato aquoso de *O. basilicum* incorporado na dieta. Juvenis de pacu ($23 \text{ g} \pm 0,08$, $n=180$) foram distribuídos em caixas de 300 L. Foram utilizadas seis repetições (seis caixas) por tratamento. Após a biometria final aos 45 dias de cultivo com os diferentes tratamentos, os peixes foram submetidos a simulação de transporte por 4 horas para avaliar o efeito dos tratamentos ao manejo de transporte. Os principais constituintes observados no óleo essencial foram metil chavicol (70,81%) e linalol (22,04%); para o extrato aquoso foram observados teores de taninos de $262,59 \pm 24 \text{ mg kg}^{-1}$. A taxa de retenção do óleo essencial ficou em torno de 50%, e para o extrato aquoso variou entre 77 e 82%. Os resultados demonstraram que a inclusão de manjeriço na dieta não teve efeito significativo no desempenho produtivo dos peixes. Os peixes suplementados com extrato aquoso apresentaram menor largura da mucosa intestinal em relação aos demais tratamentos. A simulação de transporte por 4 horas aumentou a concentração da glicose (basal, pós-estresse e de recuperação) nos peixes suplementados com extrato aquoso em relação aos peixes do grupo controle. Conclui-se que a suplementação de 0,5% de manjeriço (*Ocimum basilicum*), nas formas de óleo essencial (quimiotipo metil chavicol/linalol) e extrato aquoso, não apresentou efeitos benéficos no desempenho produtivo, morfologia intestinal e atenuação do estresse de transporte simulado em pacu (*Piaractus mesopotamicus*).

Palavras-chave: aditivos aquícolas, extratos vegetais, imunoestimulantes, peixes Neotropicais

1. Introdução

A aquicultura desempenha um papel fundamental ao fornecer uma fonte de proteína extremamente valiosa para uma alimentação equilibrada e saudável. Em 2020, foram produzidos 178 milhões de toneladas de animais aquáticos, desse total 49% foram produzidos pela aquicultura (FAO, 2022). Entre as diversas espécies de peixes, o pacu (*Piaractus mesopotamicus*) se destaca como uma das principais espécies Neotropicais

Sul-Americanas (Urbinati e Takahashi, 2020), principalmente devido a sua fácil adaptação, o rápido crescimento e a boa aceitação pelo consumidor. Esta espécie ocorre naturalmente na Bacia hidrográfica do Prata abrangendo partes do Paraguai, Uruguai, Argentina e Brasil (Jomori et al., 2005).

Para o aumento da produção aquícola é necessário a intensificação dos sistemas de cultivos, isto exige maior atenção em relação a saúde e bem-estar dos peixes buscando garantir o máximo desempenho produtivo e evitar perdas econômicas, principalmente devido as altas densidades, os manejos, as mudanças repentinas de temperatura, e da qualidade da água e ainda a ocorrência de baixo estado nutricional, os quais contribuem para mudanças fisiológicas nos peixes, acarretando em estresse ou imunossupressão (Reverter et al., 2014). Para evitar impactos e contribuir com a melhora da resposta imunológicas dos peixes, comumente tem-se utilizado a inclusão de antibióticos e quimioterápicos na dieta de peixes; no entanto, o uso frequente desses produtos podem causar resistência bacteriana contra os antibióticos e baixa imunidade do hospedeiro (Dawood et al., 2022).

Uma alternativa aos antibióticos e quimioterápicos seria a utilização de aditivos alimentares, especificamente a utilização de ervas medicinais e seus extratos vegetais naturais na dieta dos peixes, os quais podem desempenhar funções importantes e também contribuir na suplementação dietética (Ran et al., 2016) como (i) intensificadores de apetite; (ii) promotores de crescimento (Citarasu, 2010; Vaseeharan and Thaya, 2014); (iii) palatilizantes (Aydin and Barbas, 2020); (vi) facilitadores na absorção de nutrientes (Zeng et al., 2015); (vii) mitigadores do estresse; e (viii) profiláticos, permitindo aumento da imunidade e prevenindo infecções na produção de peixes saudáveis (Dawood et al., 2022).

Os óleos essenciais são obtidos por meio da extração dos constituintes secundários das plantas formados pela metabolização dos princípios ativos, que possuem propriedades terapêuticas devido a presença de monoterpenos e outros compostos fenólicos voláteis (Nakatsu et al., 2000). Para a obtenção do extrato são utilizados diferentes solventes como água e etanol (Nawaz et al., 2020); buscando na separar as substancias ativas do material vegetal (Nguyen et al 2021). Nesse sentido, o manjeriço tem sido utilizado em diferentes formas na dieta animal (Mansour et al., 2023).

O uso de manjeriço (*Ocimum basilicum*) como fonte dietética na alimentação de peixes foram relatados em alguns estudos recentes, com efeitos benéficos para o crescimento de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*; De Souza et al., 2019) e pirarucu

(*Arapaima gigas*; Chung et al., 2020); como antioxidantes e protetores imunológicos de tilápia-do-Nilo (*O. niloticus*; Abdel Rahman et al., 2022); para melhorar a atividade das enzimas digestivas e as respostas fisiológicas da tilápia-do-Nilo (*O. niloticus*; Mansour et al., 2023). O manjeriço como óleo essencial possui compostos voláteis que incluem o linalol, metil chavicol, eugenol, bergamoteno e metil cinamato como componentes principais (Klimánková et al., 2008; Sonmezdag et al., 2018).

Pesquisas com a utilização de óleo essencial de manjeriço para a espécie pacu tem demonstrado ser eficiente quando utilizado como anestésico (Ventura et al., 2021; 2023). No entanto, não existem estudos com esta espécie de peixe utilizando o manjeriço como aditivo alimentar. Dessa forma, objetivou-se avaliar o uso de manjeriço (*O. basilicum*) nas formas de óleo essencial e extrato aquoso como suplemento alimentar na dieta de pacu (*P. mesopotamicus*), investigando seus efeitos no desempenho de crescimento, morfologia intestinal, resíduo muscular, alterações hematológicas após estresse de transporte simulado.

2. Material e Métodos

2.1. Local e animais

Os procedimentos experimentais foram realizados na Estação Experimental de Piscicultura da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), em Campo Grande – MS (20°25'57''S e 55°17'11''W). Foram utilizados peixes (n=180) com peso médio de 23,04±0,08 g e 10,00±0,02 cm adquiridos comercialmente em Campo Grande – MS, Brasil. A metodologia utilizada nesse estudo foi previamente aprovada pelo comitê de ética no uso de animais da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (aprovação N° 1.073/2019).

2.2. Delineamento experimental

Foi utilizado um delineamento inteiramente casualizado com três tratamentos: (i) controle, em que os peixes foram alimentados com ração isenta de qualquer adição de aditivos; (ii) óleo essencial, em que os peixes foram alimentados com ração contendo a incorporação de 0,5% de óleo essencial de *O. basilicum* (5 mL kg⁻¹ de ração); e (iii) extrato aquoso, em que os peixes foram alimentados com ração contendo 0,5% de extrato aquoso de *O. basilicum* (5 g kg⁻¹ de ração). Nos três tratamentos foi utilizada ração comercial extrusada (2-3 mm) para peixes onívoros (36% de proteína bruta 70% extrato etéreo, 7,44% umidade; 9,77% cinzas; Comipeixe®). Foram utilizadas seis repetições

para cada tratamento.

As unidades experimentais foram formadas por caixas de 300 L, preenchidos com volume útil de 280 L. Foram utilizadas 18 caixas (seis para cada tratamento), contendo 10 peixes por caixa. O experimento foi realizado em sistema de recirculação mantido com aeração constante. O sistema de recirculação de água (RAS) foi interligado por um sistema de filtragem constituído por um decantador (200 L), um filtro químico/biológico com capacidade de 200 L com manta acrílica para filtragem, sombrite, argila expandida para fixação das bactérias nitrificantes; e um reservatório equalizador - *Sump* (200 L) para retorno da água para as caixas. O sistema foi mantido sob aeração constante por meio de um soprador de 2,04 CV, que incorporava oxigenação através de mangueiras porosas (Aquadrop®) de 80 cm de comprimento.

2.3. Obtenção e composição química do óleo essencial de *O. basilicum*

O óleo essencial de manjeriço *O. basilicum* foi adquirido de marca comercial (Phyoterápica®). Para as análises cromatográficas o óleo essencial foi preparado na concentração de 100 µg mL⁻¹ em hexano. A análise de composição química do óleo essencial foi realizada por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM) seguindo a metodologia de Ventura et al. (2023), e com os dados interpretados segundo Adams (2007).

2.4. Obtenção e composição química do extrato aquoso de *O. basilicum*

Folhas de manjeriço (*O. basilicum*) foram coletadas no Horto de Plantas Medicinais da Universidade Federal da Grande Dourados - UFGD. Foram identificados e depositadas no herbário da UFGD e registrados no SisGen, sistema do patrimônio genético nacional brasileiro, sob o código A055721. Foi utilizada uma relação de 5% entre massa vegetal e volume de água para preparar o extrato aquoso. Folhas *in natura* de manjeriço foram trituradas e o extrato foi preparado da seguinte forma: o material vegetal foi colocado em recipiente fechado com água destilada em temperatura ambiente por 24 horas. Após o procedimento de extração, o extrato foi filtrado e congelado para posterior liofilização (Christ, Alpha 1-2 LD Plus). Foi realizada a análise de composição química do extrato aquoso. Para isso o extrato foi solubilizado em água ultrapura na concentração de 1 mg mL⁻¹ e analisado por métodos espectrofotométricos e por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), as análises foram realizadas em triplicata. As análises químicas foram realizadas no Laboratório de Análise Instrumental

do Centro de Estudos em Recursos Naturais – CERNA da Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul – UEMS.

Foram analisados os teores de compostos fenólicos e flavonoides empregando o método colorimétrico descrito por Djeridane et al., (2006). Os resultados foram expressos em mg de ácido gálico equivalente (AGE) por kg de ração para flavonoides e equivalente de rutina (ER) por kg de ração para compostos fenólicos. O teor de taninos foi determinado pelo método espectrofotométrico Folin-Denis por metodologia de Pansera et al., (2003). Os resultados foram expressos em mg de equivalente de ácido tânico (TAE) por kg de ração.

Foi realizada análise por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) utilizando o cromatógrafo líquido Shimadzu LC-20A Prominence (Shimadzu Co., Kyoto, Japão). As análises foram realizadas com uma coluna Shim-pack XR-ODS (2,0 x 75 mm x 2,2 µm) (Shimadzu Co, Kyoto, Japão). O método utilizou o seguinte gradiente: 0 min, 3% B (acetonitrila); 8 min, 3% B; 30 min, 25% B; 60 min, 80% B; 70 min, 3% B; A água foi acidificada (0,1%, v/v, ácido fórmico). A vazão foi de 0,3 mL min⁻¹, a temperatura da coluna permaneceu em 40°C e o volume de injeção foi de 5 µL. O cromatógrafo foi acoplado a um espectrômetro de massa quadrupolo com tempo de voo (micrOTOF-Q™, Bruker Daltonik GmbH, Bremen, Alemanha), com ionização por electrospray (ESI). O modo negativo foi usado e os espectros foram adquiridos na faixa de massa de m/z 50 a 1200. Os valores ajustados para os parâmetros ESI-MS foram tensão capilar 4,5 kV; temperatura do gás de secagem 200°C; vazão do gás de secagem 9,0 L min⁻¹; pressão do nebulizador 4 bar. Para identificar os compostos os espectros foram comparados com a literatura (Brito et al., 2014; Chen et al., 2015; Grayer et al., 2000; Peter et al., 2015; Piccinelli et al., 2008; Pikulski and Brodbelt, 2003; Safarov, 2020; Yuan et al., 2008).

2.5. Incorporação dos aditivos na ração

A incorporação dos aditivos foi adaptada de Dairiki et al. (2013), em que foi utilizada uma solução com a diluição do óleo essencial de *O. basilicum* em álcool etílico 92,8% na concentração de 1:10 (1 mL de óleo essencial e 10 mL de álcool); e logo após utilizou-se 100 mL de álcool de cereais (96%) para cada 1000 g de ração. Para a incorporação do extrato aquoso, utilizou-se 50 mL de álcool etílico 92,8% para dissolver o extrato (5 g) e em seguida 100 mL de álcool de cereais (96%) para 1000 g de ração comercial. A ração do tratamento controle passou pela incorporação 50 mL de álcool

etílico 92,8% e 100 mL de álcool de cereais (96%) para 1000 g de ração. Esse procedimento foi realizado para que os tratamentos passassem pelo mesmo processo de incorporação, como no controle não houve a inclusão de aditivo, sofreu somente a incorporação dos álcoois (50 mL de álcool etílico e 100 mL de álcool de cereais).

A dieta de cada tratamento foi adicionada em um saco plástico e agitada manualmente por 10 minutos, em seguida essa ração foi seca em temperatura ambiente por 24 horas e, após, embalada e acondicionada em freezer para posterior uso (Dairiki et al., 2013; Menezes, 2019). Os procedimentos adotados buscaram a máxima incorporação dos aditivos à ração. A composição bromatológica foi realizada utilizando NIR (Near Infrared Proximal), para quantificar nutrientes presentes em amostras de alimentos (Dardenne et al., 2000), onde foram quantificados a proteína bruta (36,73% controle; 35,91% óleo essencial e 36,70% extrato aquoso); a umidade (7,08% controle; 8,02% óleo essencial e 8,28% extrato aquoso) e as cinzas (7,33% controle; 7,63% óleo essencial e 7,60% extrato aquoso). As dietas foram fornecidas aos animais dos respectivos tratamentos com uma frequência de duas vezes ao dia (09:00 e 16:00 h) até a saciedade aparente por 45 dias no limite de 5% da biomassa em cada caixa.

2.6. Análise da composição química das amostras de ração incorporadas com os aditivos

Para análise das rações dos tratamentos houve um fracionamento em extratos, hexânico e aquoso, de cada ração. O extrato hexânico foi preparado para extrair os constituintes de menor polaridade e o extrato aquoso para extrair os constituintes mais polares. Foram pesados 10 g de ração e colocadas em contato com 25 mL de hexano por 30 minutos em banho ultrassônico e depois filtradas e secas em nitrogênio para obtenção do extrato hexânico. A borra dessa extração foi colocada em contato com 25 mL de água destilada por 30 minutos em banho ultrassônico e após filtrada e liofilizada foi obtido o extrato aquoso da ração. Foram obtidos dois extratos (hexano e aquoso) de cada ração incorporada para obter a composição mais ampla e similar ao óleo essencial e extrato aquoso (tratamentos) de partida. Os extratos (hexânico e aquoso) de cada ração foram analisados pelas mesmas técnicas empregadas na análise de partida, sendo que o extrato aquoso da ração foi analisado por métodos espectrofotométricos e CLAE e o extrato hexânico da ração por CG-EM.

Para as análises por CG-EM foi construída uma curva analítica para a quantificação residual do metil chavicol e linalol. A linearidade do método foi

determinada pela curva de regressão linear empregando as concentrações de 0,40-0,02 $\mu\text{g kg}^{-1}$ para metil chavicol, e nas concentrações 2,40-0,080 $\mu\text{g kg}^{-1}$ para o linalool. Os limites de detecção e quantificação foram avaliados em diferentes concentrações empregando a relação sinal ruído.

2.7. Desempenho produtivo e qualidade de água

Os dados obtidos nas medições biométricas iniciais e finais foram utilizados para avaliações relacionadas aos índices de desempenho produtivo: Peso médio (g) = Média dos pesos individuais dos peixes da caixa; Biomassa final (kg) = Número final de peixes x Peso médio final; Conversão alimentar aparente = Consumo de ração/Ganho de peso; Ganho de peso médio (g) = Peso final médio - Peso inicial médio; Ganho de peso diário (g/dia^{-1}) = Ganho de peso médio/Período (dias); Consumo diário de ração (kg) = Peso total de ração consumida por dia; Taxa de crescimento específico em peso (% por dia) = $[(\ln \text{Peso final} - \ln \text{Peso inicial})/\text{Período}] \times 100$ e fator de condição de Fulton [(Fator K = $(\text{Peso}/\text{Comprimento total}^3) \times 100$)]; Índice hepatossomático (IHS): $[(\text{peso do fígado} / \text{peso corporal}) \times 100]$ e a Taxa de sobrevivência (%) = $(\text{número inicial de peixes}/\text{número final de peixes}) \times 100$.

Os parâmetros físico-químicos da água: oxigênio dissolvido, temperatura (oxímetro digital Alfakit AT-160) e pH (pH-1500 Intelligent Meter) foram monitorados diariamente pela manhã (08:00h) e tarde (16:00h); nitrogênio amoniacal total (NAT), amônia tóxica (NH_3) nitrito (NO_2^-), nitrato (NO_3^-) (testes colorimétrico) e alcalinidade (titulação), foram monitorados semanalmente. Durante o experimento, a qualidade da água se manteve a uma temperatura pela manhã $24,59 \pm 1,63^\circ\text{C}$ e a tarde $27,58 \pm 1,94^\circ\text{C}$, oxigênio dissolvido pela manhã $7,51 \pm 0,92$ e a tarde $7,06 \pm 0,82 \text{ mg L}^{-1}$, pH pela manhã $7,31 \pm 0,66$ e a tarde $7,24 \pm 0,67$, nitrogênio amoniacal total $0,3 \pm 0,11 \text{ mg L}^{-1}$, amônia tóxica (NH_3) $0,01 \pm 0,01 \text{ mg L}^{-1}$; nitrito $0,4 \pm 0,32 \text{ mg L}^{-1}$; nitrato $18,81 \pm 9,41 \text{ mg L}^{-1}$ e alcalinidade $17,5 \pm 6,45 \text{ mg L}^{-1}$.

2.8. Análises histológicas

Ao final do período experimental (45 dias) os peixes foram mantidos em jejum por 24 horas, em seguida foram anestesiados (50 mg L^{-1} , Inoue e Moraes, 2007) para a realização da biometria final para coleta de peso (g) e comprimento (cm). Em seguida três peixes de cada repetição (n=18) foram eutanasiados por secção medular para coleta de fígado, intestino e músculo. O fígado foi utilizado para o cálculo do índice

hepatossomático e para avaliação visual em uma escala de cor de 1 a 5, onde o escore 1 é pálido/amarelado e o escore 5 é marrom escuro de acordo com Morkore et al., (2020). O intestino foi utilizado para análises histológicas e amostras de tecido muscular foram armazenadas e congeladas para posterior análise do teor residual de manjeriço no filé.

Lâminas histológicas foram confeccionadas para histomorfometria do epitélio intestinal médio no Laboratório de Patologia Experimental do Instituto de Biociências Lapex/InBio, da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul. Os peixes foram submetidos a um corte ventral longitudinal para exposição dos órgãos. Fragmento de aproximadamente 3 cm do intestino médio foram coletados e fixados em formol (10%). Em seguida, as amostras foram desidratadas em série crescente de álcool, diafanizadas em xilol e incluídas em parafina, para obtenção de cortes transversais com auxílio de micrótomo em espessura de 5 µm. De cada intestino foram confeccionadas três lâminas contendo três cortes seriados cada, que foram coradas com hematoxilina-eosina (HE) e analisadas ao microscópio de luz e fotografadas utilizando microscópio óptico Zeiss (Optican LOPT14001[®]), acoplado a um microcomputador com programa de computador *Software ImageJ* (adaptado de Nunes et al., 2020). Para análises histomorfométricas intestinais, foram medidas 15 vilosidades intestinais por animal, totalizando 270 vilosidades por tratamento (Da Silva et al., 2010), as medidas foram referentes a: AV: altura do vilão; LV: largura do vilão; AM: Altura da mucosa; LM¹: largura da muscular (Figura 1).



Figura 1. Representação de corte histológico (Hematoxilina e Eosina) da parte medial do intestino de pacu (*Piaractus mesopotamicus*) alimentados com dietas contendo óleo essencial e extrato aquoso de manjeriço (*Ocimum basilicum*) por 45 dias. AV: altura do vilão; LV: largura do vilão; AM: Altura da mucosa; LM¹: largura da muscular.

2.9. Análise residual na musculatura

A análise residual de compostos no filé foi realizada no Laboratório CERNA – UEMS. O músculo (n=18 por tratamento, tres por unidade experimental), foi descongelado em ambiente com temperatura controlada (20° C). Pesou-se 1 g de músculo e, em seguida foram adicionados 3 mL de hexano (grau cromatográfico). As amostras foram homogeneizadas e agitadas em cuba ultrassônica (L 100 - Schuster) com temporizador por 30 min. O extrato hexânico foi filtrado e o resíduo foi novamente extraído por 3 vezes consecutivas com a mesma amostra, e as frações hexânicas unidas para posterior evaporação em capela de exaustão, que em seguida foram pesadas e redissolvidas para 1 mL de hexano para análise por CG-EM. A torta resultante da extração com hexano foi submetida a extração em etanol:água (1:1, v:v) grau cromatográfico.

Posteriormente, as amostras foram homogeneizadas e agitadas em cuba ultrassônica com temporizador por 30 min. A fração etanol:água foi filtrada e o resíduo foi novamente extraído por 3 vezes consecutivas com a mesma amostra e solvente, as frações unidas foram para posterior secagem em atmosfera de nitrogênio (para retirar a umidade), e em seguida foram pesadas e redissolvidas para 1 mL de metanol para análise espectrofotométrica e por CLAE. As análises foram realizadas em triplicata utilizando metodologia de Adams (2007).

2.10. Desafio por estresse – simulação de transporte

Ao final dos 45 dias experimentais, os peixes foram anestesiados (eugenol 50 mg L⁻¹, Inoue e Moraes, 2007) para coleta de sangue basal; após a coleta de sangue, esses peixes foram para uma caixa com água limpa e aeração até recuperação da posição normal de nado e da capacidade de nadar (Woody et al., 2002), e em seguida foram para o saco correspondente a cada tratamento para a simulação de transporte.

O desafio por estresse foi realizado por meio de uma simulação de transporte conforme metodologia adaptada de Ferreira et al., (2022). Os peixes foram mantidos em jejum por 24 horas e sendo utilizados 126 peixes (57,26±0,29 g e 13,80±0,06 cm) que foram mantidos anteriormente nas 18 unidades experimentais (controle; óleo essencial e extrato aquoso de *O. basilicum*). Para simulação, sete peixes de cada unidade experimental foram transferidos para 18 sacos plásticos (70x90 cm) contendo 20 L de água e 2/3 de oxigênio puro. Cada saco plástico representou uma unidade experimental. Estes sacos foram alocados em caixas d'água de 1000 L durante quatro horas com

agitação constante por aeração, e a cada 30 minutos foram agitados manualmente (por um minuto) para que houvesse a simulação de perturbação que ocorre durante transporte de peixes vivos. Após a simulação, os respectivos sacos foram abertos e os peixes novamente foram anestesiados e em seguida realizada a coleta de sangue pós transporte (pós-estresse).

Em seguida os peixes foram direcionados às suas caixas de origem (cada tratamento) para recuperação de uma semana (sete dias). Foram avaliada as variáveis de qualidade de água temperatura, oxigênio dissolvido e pH durante o período de recuperação pós-estresse. A temperatura média pela manhã $24,52 \pm 0,76$ °C e a tarde $29,02 \pm 1,08$ °C, oxigênio dissolvido pela manhã $7,22 \pm 1,46$ mg L⁻¹; pH pela manhã $6,40 \pm 0,22$ e a tarde $6,51 \pm 0,16$; nitrogênio amoniacal total (NAT) $0,28 \pm 0,07$ mg L⁻¹; amônia tóxica (NH₃) $0,00 \pm 0,17$ mg L⁻¹; nitrito $0,44 \pm 0,00$ mg L⁻¹; nitrato $24,50 \pm 0,13$ mg L⁻¹ e alcalinidade $18,89 \pm 0,83$ mg L⁻¹. Após uma semana de recuperação, novamente os peixes foram anestesiados e foi realizada uma nova coleta de sangue para avaliar os parâmetros hematológicos após a recuperação de uma semana (recuperação). Nesse período não houve mortalidade dos peixes.

2.11. Análises hematológicas e bioquímicas

Para análise hematológicas, o sangue foi coletado em três momentos diferentes: antes do desafio (coleta basal), após o desafio (pós-estresse) e no sétimo dia após a simulação de estresse (recuperação do estresse). Amostras de sangue foram retiradas de sete peixes de cada tratamento por punção do vaso caudal usando seringas de 1 mL e agulhas descartáveis banhadas com heparina sódica 5000 UI. Foi utilizado um *pool* de sangue dos sete peixes de cada unidade experimental para que houvesse sangue suficiente para as análises. O sangue coletado foi analisado no Laboratório de Patologia Clínica da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, e as análises hematológicas realizadas foram: dosagem de hemoglobina (g dL⁻¹), volume globular ($\times 10^6$ μL⁻¹), proteína plasmática total e análise bioquímica de glicose (mg dL⁻¹) (Ranzani-Paiva et al., 2013). As análises foram realizadas em duplicata.

2.12. Análises estatísticas

As variáveis dependentes de desempenho zootécnico foram submetidas aos testes de normalidade de Shapiro-Wilk e de Levene para homogeneidade de variâncias. Quando admitida normalidade e homogeneidade de variâncias, as variáveis dependentes foram

submetidas a Análise de Variância com um modelo com uma variável independente (Anova - One Way), seguida do Teste t de Student. Nas variáveis onde não foi admitida normalidade e homogeneidade de variâncias foram utilizados os testes não paramétricos de Kruskal-Wallis e Dunn.

As variáveis hematológicas, bioquímicas e histológicas foram submetidas a Análise de Medidas Repetidas (Kaps e Lamberson, 2017), utilizando os modelos mistos pelo procedimento MIXED do SAS, com as seguintes causas de variação no modelo: tratamento, tempo e a interação entre estes. O erro para avaliação das subparcelas foi repetição dentro de tratamento. As análises foram executadas seguindo as orientações de Kaps e Lamberson (2017), Littell et al. (2006), Littell et al. (1998) e Wolfinger & Chang (1995). A seleção da melhor estrutura da matriz de covariâncias foi feita pelo estudo das várias estatísticas fornecidas pelo procedimento MIXED do SAS: -2 Res Log Likelihood (RLL), Akaike's Information Criterion (AIC) e Schwarz's Bayesian Criterion (BIC), seguindo as orientações de Kincaid (2005) e Littell et al. (2006). Quanto menor o valor dessas estatísticas, melhor a estrutura.

Foi considerado também o resultado do Teste da Razão de Verossimilhança Restrita em relação ao modelo nulo, para testar a adequação da estrutura escolhida em relação a estrutura $I\sigma^2$ (erros independentes). Testou também a esfericidade da matriz de covariâncias pelo Teste de Mauchly, para testar se análise considerando parcelas divididas no tempo - Usada no PROC GLM – é melhor que a especificada no PROC MIXED. Foram avaliadas quatorze estruturas. As médias de mínimos quadrados foram comparadas pelo Teste de Tukey-Kramer com nível de significância de 0,05.

3. Resultados

*3.1. Análise da composição química do óleo essencial e extrato aquoso de *O. basilicum**

As análises de composição química realizadas demonstraram os constituintes majoritários do óleo essencial utilizados neste estudo foram o metil chavicol (70,81%) e linalool (22,04%), sendo 7,15% composto por constituintes minoritários. Para o extrato aquoso, foram identificadas substâncias como Luteolina-4'-glicosídeo; Apigenin 6,8-di-C-glicosídeo; Kaempferol-3-O-glicosídeo; Rutina; Quercetina-3-O-glicosídeo; Ácido Rosmarínico; Cirsimaritina e Baicaleína-7-O-glicosídeo. O extrato aquoso apresentou teores de taninos de $262,59 \pm 6,24 \text{ mg kg}^{-1}$, compostos fenólicos $2542,22 \pm 50,92 \text{ mg kg}^{-1}$ e flavonoides $918,08 \pm 5,66 \text{ mg kg}^{-1}$.

3.2. Análise da composição química da ração após inclusão do manjeriço *O. basilicum*

O teor de taninos foi observado apenas na ração com extrato aquoso. O teor de compostos fenólicos e flavonoides foi maior na ração com extrato aquoso em relação a ração comercial e com óleo essencial (Tabela 1).

Tabela 1. Análise fitoquímica das rações ofertadas nos diferentes tratamentos de inclusão de *Ocimum basilicum* na ração de juvenis de pacu (*Piaractus mesopotamicus*) por 45 dias.

Tratamentos	Teores (mg kg ⁻¹)		
	Taninos	Compostos fenólicos	Flavonoides
Ração comercial	-	1,81±0,01	0,52±0,02
Ração com óleo essencial	-	1,96±0,02	0,58±0,02
Ração com extrato aquoso	1,39±0,02	9,77±0,05	3,42±0,02

-: não detectado.

3.3. Taxa de incorporação de *Ocimum basilicum* na ração comercial

A taxa de incorporação do extrato aquoso na ração ficou entre 77 e 82%. No óleo essencial esta taxa foi de 50% (valores obtidos a partir de cálculo da concentração dos compostos encontrados na amostra de ração após inclusão em relação a quantidade existente no extrato e óleo essencial bruto). Compostos da fração hexânica apenas com óleo essencial de manjeriço apresentaram uma incorporação dos componentes majoritários de 191,47±0,42 mg kg⁻¹ para metil chavicol e 44,00±0,06 mg kg⁻¹ para o linalol; já para os componentes minoritários a incorporação 15,09±0,67 mg kg⁻¹ em relação aos constituintes presentes no óleo essencial.

3.4. Desempenho de crescimento

Não houve diferença entre os tratamentos e o controle para o peso e comprimento dos peixes. Da mesma forma aos 45 dias de cultivo, os juvenis de pacu não apresentaram melhora ($p > 0,05$) no ganho em peso, no ganho em peso diário e na biomassa final, em relação aos peixes com ração sem aditivo. As demais variáveis de desempenho produtivo também não apresentaram efeito significativo quando a inclusão dos aditivos. Não foi observada mortalidade dos peixes durante o período experimental (Tabela 2).

Tabela 2. Desempenho de crescimento de pacus (*Piaractus mesopotamicus*) submetidos a suplementação com adição de manjeriço (*Ocimum basilicum*) por 45 dias.

Variáveis	Incorporação				¹ Valor- <i>p</i>
	<i>Ocimum basilicum</i>			CV%	
	Controle	Óleo essencial (5 mL/kg)	Extrato em pó (5 g/kg)		
Peso Inicial (g)	23,26	22,80	23,07	2,06	0,2688
Peso Final (g)	58,48	55,49	57,81	4,11	0,1013
Comp. Padrão Inicial (cm)	8,72	8,66	8,70	0,56	0,1541
Comp. Padrão Final (cm)	11,85	11,76	11,94	2,24	0,5669
Comp. Total Inicial (cm)	10,08	9,92	9,92	3,16	0,6353
Comp. Total Final (cm)	13,87	13,88	13,96	2,29	0,8600
Ganho de Peso médio (g)	35,22	35,69	34,74	6,59	0,1526
² CDR (g)	7,15	7,03	6,99	2,16	0,2114
³ GPD (g/dia)	0,78	0,73	0,77	6,63	0,1662
Biomassa Final (g)	584,83	554,87	578,10	4,11	0,1013
⁴ CAA	0,92	0,97	0,91	5,28	0,1026
⁵ TCE (%)	0,89	0,86	0,89	4,40	0,3234
⁶ IHS (%)	1,20	1,26	1,36	13,41	0,3050
⁷ FC	2,28	2,08	2,22	9,72	0,2483
Cor do Fígado (1-5)⁸	3,78	3,72	3,78	7,04	0,9153
Sobrevivencia (%)	100	100	100	-	-

¹Valor-*p* da Análise de Variância do Teste de *t* de Student, sendo significativo quando $p < 0,05$. ²CDR: Consumo diário de ração; ³GPD: Ganho de Peso Diário; ⁴CAA: Conversão Alimentar Aparente; ⁵TCE: Taxa de Crescimento Específico; ⁶IHS: Índice Hepatosomático; ⁷FC: Fator de Condição de Fulton; ⁸De acordo com uma escala de 1 a 5, onde o escore 1 é pálido/amarelado e o escore 5 é marrom escuro.

3.5. Morfologia Intestinal

As variáveis histológicas realizadas na porção medial do intestino dos peixes amostrados ($n=3$) entre os diferentes grupos, demonstrou resultado significativo ($p < 0,05$) para a Altura da mucosa (AM), apresentando menor largura para o grupo testado com extrato aquoso (AM: 16,28 μm) seguido pelos grupos alimentados com óleo essencial e controle (OE: 19,09 e CON: 20,44 μm , respectivamente) (Tabela 3).

Tabela 3. Valores medianos (postos médios) para variáveis histomorfométricas do intestino médio de pacus (*Piaractus mesopotamicus*) submetidos a suplementação com adição de manjeriço (*Ocimum basilicum*) por 45 dias.

Variáveis (μm)	Incorporação 0,5% de <i>Ocimum basilicum</i> por kg de ração			
	Controle	Óleo essencial (5 mL/kg)	Extrato aquoso (5 g/kg)	¹ Valor- <i>P</i>
Altura do Vilo	345,67 (13,17)	309,43 (9,67)	272,68 (5,67)	0,0516
Largura do Vilo	81,79 (8,33)	87,05 (11,17)	85,05 (9,00)	0,6300
Altura da Mucosa	20,44 (12,83) a	19,09 (10,83) a	16,28 (4,23) b	0,0260
Largura da Muscular	27,72 (10,67)	26,78 (8,33)	28,12 (9,50)	0,7508

¹Valor-*P* do Teste de Kruskal-Wallis, sendo significativo quando $p < 0,05$. Postos médios seguidos de letras distintas na linha diferem estatisticamente pelo teste de Dunn ($p < 0,05$).

3.6. Análise do músculo

Na análise química do músculo dos peixes alimentados por 45 dias com o manjeriço *O. basilicum* foi encontrado a deposição dos principais constituintes do óleo essencial metil chavicol ($9,42 \pm 2,19 \text{ mg kg}^{-1}$) e linalol ($1,99 \pm 0,05 \text{ mg kg}^{-1}$). Nos peixes alimentados com o extrato aquoso foram identificados $0,53 \pm 0,02 \text{ mg kg}^{-1}$ de teor de compostos fenólicos. Os demais compostos do óleo essencial e do extrato aquoso não foram encontrados no tecido muscular dos peixes.

3.7. Desafio por estresse – simulação de transporte

Após a simulação de transporte por 4 horas, não foi observado interação ($p > 0,05$) entre os tempos de avaliação (basal, pós-estresse e recuperação) e os tratamentos avaliados (controle, óleo essencial e extrato aquoso) para as variáveis bioquímicas e hematológicas. Observou-se aumento ($p < 0,05$) da concentração de glicose nos peixes que foram submetidos ao tratamento com extrato aquoso e se manteve elevada em todos os momentos avaliados: glicose basal, pós-estresse e recuperação, em relação aos peixes pertencentes ao grupo controle. As demais variáveis hematológicas diferiram apenas entres os tempos avaliados (Tabela 4).

Tabela 4. Variáveis bioquímicas e hematológicas de pacus (*Piaractus mesopotamicus*) após estresse simulado por transporte (4 horas), suplementados com a incorporação de manjeriço (*Ocimum basilicum*) na ração por 45 dias.

Variáveis	Incorporação de <i>Ocimum basilicum</i> 0,5% por kg de ração			¹ Valor- <i>p</i>
	Controle	Óleo essencial (5 mL/kg)	Extrato aquoso (5 g/kg)	
Glicose (mg dL⁻¹)				
Basal	80,20 Cb	82,83 Cb	94,67 Ca	<0,0001 ^a
Pós-Estresse	102,83 Bb	113,17 Bb	135,17 Ba	<0,0001 ^b
Recuperação	124,00 Ab	131,67 Ab	145,82 Aa	0,2664 ^c
Hemoglobina (g dL⁻¹)				
Basal	9,22 Aa	8,87 Aa	7,78 Aa	0,7329 ^a
Pós-Estresse	6,97 Ba	7,03 Ba	7,67 Ba	<0,0001 ^b
Recuperação	6,40 Ca	5,90 Ca	6,13 Ca	0,1587 ^c
Volume Globular (x 10⁶ µL⁻¹)				
Basal	40,50 Aa	41,58 Aa	40,08 Aa	0,4118 ^a
Pós-Estresse	32,58 Ca	32,33 Ca	32,75 Ca	<0,0001 ^b
Recuperação	34,67 Ba	35,50 Ba	33,83 Ba	0,3352 ^c
Proteína Plasmática Total (mg dL⁻¹)				
Basal	3,22 Ba	3,30 Ba	3,33 Ba	0,9382 ^a
Pós-Estresse	3,12 Ba	3,02 Ba	3,07 Ba	<0,0001 ^b
Recuperação	4,07 Aa	4,17 Aa	4,03 Aa	0,2136 ^c

Valor-*p* obtido para as seguintes causas de variação no modelo: tratamento^a, tempo^b e a interação entre estes^c. A seleção da melhor estrutura da matriz de covariâncias resultou em: -2 Res Log Likelihood (RLL), Akaike's Information Criterion (AIC) e Schwarz's Bayesian Criterion (BIC), seguindo as orientações de Kincaid (2005) e Littell et al. (2006). Foram avaliadas quatorze estruturas. As médias de mínimos quadrados foram comparadas pelo Teste de Tukey-Kramer com nível de significância de 0,05; onde, letras maiúsculas na coluna apresentam diferença entre tempo e tratamento; e Letras minúsculas na linha apresentam diferença entre tratamentos.

4. Discussão

O manjeriço (*O. basilicum*), é uma erva aromática amplamente utilizada como tempero culinário, e contém em sua composição antioxidantes naturais como flavonoides, ácidos fenólicos, esteroides e vitaminas (A, C, E, K) (Marwat et al., 2011). A composição fitoquímica de *O. basilicum* foi distinta entre o óleo essencial e o extrato utilizado nesse estudo. Isso ocorre principalmente pela forma como é realizada a extração do óleo essencial e a forma como é realizado o processamento para obtenção do extrato, e também em relação as condições em que a planta foi cultivada (Martins et al., 2000). O óleo essencial de manjeriço apresenta diversos constituintes, sendo os principais o metil chavicol e linalol, dentre outros, que apresentam propriedades anti-inflamatória, anti-helmínticas, antioxidantes e antimicrobianas (Osei Akoto et al., 2020).

Na avaliação da composição química, podemos confirmar que o óleo essencial utilizado neste estudo apresentou estes constituintes como majoritários, assim como observados em estudos realizados por El-Dakar et al. (2008), os quais encontraram 14,99% de metil chavicol e 10,20% de linalol; Ventura et al. (2021b), que encontraram 66,51% metil chavicol e linalool 20,90% e Yigit et al. (2022), encontraram 72,57% metil chavicol e 21,60% linalool. O extrato aquoso apresentou substâncias como compostos fenólicos, flavonoides e taninos, os quais tem sido atribuído potencial terapêutico, tais como reportado por Saied et al. (2020), os quais, em triagem fitoquímica do extrato observaram a presença dos mesmos compostos, quando utilizaram o extrato etanólico de *O. basilicum* no tratamento da papilomatose bovina. A ação destes compostos presentes nas ervas aromáticas é de grande importância, pois ajudam a reduzir o estresse oxidativo, protegendo o corpo de radicais livres, além de contribuir para a saúde dos peixes (Chung et al., 2020).

O uso de *O. basilicum* tanto na forma de óleo essencial ou em extrato aquoso não foram capazes de promover melhoria no desempenho dos peixes, possivelmente devido ao baixo percentual de linalol, conforme De Souza et al., (2019) e Chung et al. (2020). Segundo De Souza et al. (2019), o componente linalol, quando presente em maior porcentagem no óleo essencial, pode ter um efeito significativo maior no desempenho de crescimento dos peixes. Esse relato foi descrito por Chung et al. (2020), que obtiveram em seu estudo 54,19% de linalol como componente majoritário. Em nosso estudo, esse constituinte representou apenas 22,04%, o que pode justificar um baixo desempenho produtivo dos peixes que receberam a suplementação com a incorporação de *O. basilicum*.

O efeito positivo do manjeriço como aditivo alimentar foi reportado em diversos estudos, tal como realizado por El-Dakar et al. (2008), que avaliaram a incorporação 0,5, 1,0 e 2,0% de folhas secas de manjeriço na dieta de tilápia híbrida por 84 dias (13 g, *O. niloticus* x *O. aureus*), e encontraram melhora significativa no peso final, ganho de peso e taxa de crescimento específico em comparação com a dieta controle. Chung et al. (2020), observaram efeito no crescimento em juvenis de pirarucu (945,40±18,06 g *Arapaima gigas*) com o uso de 2,0 mL kg⁻¹ de óleo essencial na dieta por 48 dias. Para tilápia-do-Nilo (12,13±0,11 g *Oreochromis niloticus*), De Souza et al. (2019), relataram que 1,0 mL kg⁻¹ óleo essencial na dieta por 45 dias é mais eficiente no desempenho produtivo. Shahsavani et al. (2021), em estudo com carpa comum por 60 dias (63,16±0,72 g *Cyprinus. carpio*) observaram maior ganho em peso (13,58 g) e taxa de crescimento

específico (14% ao dia) no grupo alimentado com 6% de manjeriço em pó na dieta. Além disso, Mansour et al. (2023), observaram que tilápias-do-Nilo ($40,0 \pm 1,0$ g) alimentadas com extrato aquoso de manjeriço por 8 semanas (200, 300 e 500 mg kg^{-1}) obtiveram maior desempenho de crescimento quando comparados ao grupo controle.

Estes estudos demonstram que a dosagem e o período de avaliação utilizado no presente estudo poderia ter produzido resultados positivos no desempenho produtivo de pacu, o que não foi observado. Uma hipótese para este resultado pode ser a composição e/ou concentração ou mesmo a interação dos componentes majoritários no *O. basilicum* do presente estudo. Além disso, as diferenças observadas nos estudos analisados, incluindo as variações nas metodologias utilizadas para extrair tanto o extrato quanto o óleo essencial, e suas diferentes aplicações em diversas espécies de peixes, podem representar um desafio na comparação dos resultados relativos ao desempenho produtivo desses animais durante as avaliações.

Um indicativo de melhora da saúde intestinal é o aumento da área de absorção, bem como o número, altura e largura das vilosidades (Abdel-Latif et al., 2020). No entanto, observamos a redução na espessura da mucosa intestinal no grupo de peixes que foram alimentados com extrato aquoso em relação aos demais tratamentos, o que pode diminuir a capacidade de absorver os nutrientes presentes na dieta (Chung et al., 2021). Essa diminuição pode ter ocorrido possivelmente devido a presença do alto teor fitoquímicos como taninos, compostos fenólicos e flavonoides presentes na ração com o extrato aquoso.

Alguns compostos fenólicos podem ser classificados como fatores antinutricionais endógenos que prejudicam a digestibilidade ou a utilização metabólica das proteínas (Chubb, 1982). Os taninos representam compostos fenólicos de alto peso molecular e quando incorporados na dieta de peixes podem desencadear alterações no metabolismo, hemorragias, gastroenterite e também podem se associar-se a enzimas digestivas, proteínas e outros polímeros, formando complexos estáveis que podem inibir a absorção eficiente de nutrientes (Pinto et al., 2004), provocando assim, um efeito desfavorável para o extrato aquoso. Em estudo relacionado, Nguyen et al. (2021) descrevem que o extrato etanólico de manjeriço contém diversos compostos, como flavonoides e taninos, e dependendo da técnica utilizada na obtenção do extrato, podem afetar os constituintes fitoquímicos presentes no extrato, assim como as propriedades biológicas.

Após inclusão de aditivos nas dietas dos peixes é recomendado realizar a análise

de resíduos para verificar a possível presença de substâncias não metabolizadas durante o processo de digestão. Assim, a análise residual consiste em identificar se um determinado componente utilizado na alimentação dos peixes se mantém em quantidades significativas no filé após o processamento. Segundo as diretrizes da Organização Mundial da Saúde (OMS, 2006), alimentos comercializados não devem apresentar resíduos de compostos químicos, e se houverem, esses resíduos devem estar dentro dos limites aceitáveis para o consumo humano. Nossos resultados corroboram com o observado por Ventura et al. (2020), que identificaram uma concentração residual de metil chavicol ($20,52 \mu\text{g kg}^{-1}$) em filés de tilápias-do-Nilo quando submetidos ao transporte por duas horas. Da mesma forma, verificamos que o componente predominante, o metil chavicol, apresenta uma concentração residual mais elevada no músculo dos peixes que foram alimentados com a dieta contendo o óleo essencial.

Importante ressaltar que, mesmo presente no músculo dos peixes, esses constituintes (metil chavicol e linalol) estão abaixo do recomendado pela OMS (2006), que estabelece um valor máximo de 24 mg kg^{-1} para inclusão do óleo essencial de manjeriço (*O. basilicum*), classificando-o como geralmente seguro para o consumo humano. Além disso, Ventura et al. (2023), também afirmaram que os constituintes principais do óleo essencial de *O. basilicum* são eliminados rapidamente pelo pacu após 24 horas de recuperação anestésica.

Em estudos que envolvem a incorporação de aditivos vegetais nas dietas dos peixes, geralmente são conduzidos testes desafiadores que têm o potencial de induzir estresse nos animais, com o objetivo de avaliar possíveis efeitos benéficos com o uso de óleos essenciais e extratos vegetais. Esses desafios podem incluir exposição a agentes bacterianos (Amirkhani e Firouzbakhsh, 2015; De Souza et al., 2019), elevadas densidades de estocagem (Chung et al., 2020) ou simulação de transporte (Ferreira et al., 2022).

Após a avaliação hematobioquímica, observou-se que quando os peixes foram submetidos a um agente estressor por transporte simulado, houve um aumento nos níveis de glicose, o que é um indicativo de que os peixes passaram por algum tipo de estresse (Fazio et al., 2015). Por ser um metabólito primário de reserva de energia utilizada em situação de estresse, é naturalmente esperado que os níveis de glicose aumentem em tais circunstâncias, como observado nesse estudo, onde houve aumento de glicose após a simulação de transporte (glicose pós-estresse). Entretanto, esperava-se que pelo potencial efeito sedativo do manjeriço (Mahajan et al., 2013; Uritu et al., 2018), houvesse um

efeito positivo na redução da glicose após a recuperação do estresse simulado por transporte. No entanto, essa tendência não se refletiu em nosso estudo, em que a utilização de manjerição na dieta não teve efeito na mitigação do agente estressor. Estudos realizados por Ventura et al., (2020) e Chung et al. (2020), também descrevem que não observaram diminuição nos níveis de glicose ao incluir o óleo essencial de *O. basilicum* durante o transporte de tilápias-do-Nilo e na dieta pirarucu (respectivamente).

O efeito de aumento da glicose também foi observado nos peixes alimentados com o extrato aquoso, que se manteve em níveis mais elevados em todos os momentos de avaliação, em relação aos demais tratamentos. Divergindo do nosso estudo, Amirkhani e Firouzbakhsh (2015), observaram que os níveis de glicose em carpa comum (10,02 g; *Cyprinos carpio*) diminuía à medida em que as concentrações (100, 200, 400, 800, 1600 mg kg⁻¹) do extrato etanólico das folhas de manjerição aumentavam em peixes desafiados com *Aeromonas hydrophila* após 60 dias de alimentação, indicando uma redução nos efeitos de estresse. Níveis de glicose elevados em função do uso do extrato aquoso de manjerição não são relatados em outros estudos, dificultando uma possível comparação. No entanto, fazendo uma relação ao estudo mencionado, a maior concentração utilizada (1600 mg kg⁻¹) corresponde a 1,6 g kg⁻¹, em comparação com os 5 g kg⁻¹ de extrato aquoso utilizado em nosso estudo. Assim, possivelmente pode ter ocorrido um excesso nas substâncias presentes no extrato, e pode ser que os peixes não tenham metabolizado esses compostos de forma eficiente para atuar na redução da glicose. Contudo, as substâncias presentes no extrato aquoso em nosso estudo são atribuídas aos compostos fenólicos produzidos pelo metabolismo secundário das plantas estes compostos químicos podem provocar à redução de glicose no sangue. No entanto, esses compostos ativos podem sofrer alterações em relação ao método como são extraídos, tornando-os facilmente oxidados e assim podem ser ou não atenuantes nos efeitos relacionados à glicose (Rumengan et al., 2019).

Em nosso estudo, observamos que os valores para as variáveis hematológicas observados após a recuperação da simulação por transporte não retornaram aos níveis basais. Possivelmente pelo fato de ter sido realizadas coletas de sangues sucessivas (em três momentos distintos) em um pequeno intervalo de tempo, por ter havido um efeito do estresse mais prolongado nesses peixes. Barton (2002), relata que os peixes podem exibir uma resposta cumulativa em função de estresse repetido, e nesse sentido a resposta fisiológica pode ser comprometida. Além desses fatores, a eficiência do uso dos extratos vegetais está relacionada diretamente ao tipo extração e composição química, que

dependendo de sua porcentagem em relação aos demais constituintes e/ou a interação entre eles, podem ter maior influência e agir de diferentes formas sobre determinada espécie de peixe, que podem demonstrar efeitos diversos sobre seu desempenho produtivo e bem-estar animal.

5. Conclusão

O manjeriço (*Ocimum basilicum*), nas formas de óleo essencial (quimiotipo metil chavicol/linalol) e extrato aquoso, não apresentou efeitos benéficos no desempenho produtivo, morfologia intestinal e atenuação do estresse de transporte simulado em pacu (*Piaractus mesopotamicus*).

6. Agradecimentos

Este estudo foi financiado em parte pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) – Código de financiamento 001 e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa concedida a ASV (150256/2023-0), CALC (processo 312671/2021-0).

7. Referencias

- Abdel Rahman, A.N., Elshopakey, G.E., Behairy, A., Altohamy, D.E., Ahmed, A.I., Farroh, K.Y., Alkafafy, M., Shahin, S.A., Ibrahim, R.E. 2022. Chitosan-*Ocimum basilicum* nanocomposite as a dietary additive in *Oreochromis niloticus*: Effects on immune-antioxidant response, head kidney gene expression, intestinal architecture, and growth. *Fish Shellfish Immunol.* 128, 425–435.
<https://doi.org/10.1016/j.fsi.2022.08.020>
- Abdel-Latif, H.M.R., Abdel-Tawwab, M., Khafaga, A.F., Dawood, M.A.O. 2020. Dietary origanum essential oil improved antioxidative status, immune-related genes, and resistance of common carp (*Cyprinus carpio* L.) to *Aeromonas hydrophila* infection. **Fish Shellfish Immunol.** 104, 1–7.
<https://doi.org/10.1016/j.fsi.2020.05.056>
- Adams, R.P. 2007. **Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectroscopy**, 1st edn. Allured Publishing Corporation, Carol Stre.
- Amirkhani, N., Firouzbakhsh, F. 2015. Protective effects of basil (*Ocimum basilicum*) ethanolic extract supplementation diets against experimental *Aeromonas hydrophila* infection in common carp (*Cyprinus carpio*). **Aquaculture Research**, 46, 716–724.
<https://doi.org/10.1111/are.12217>
- Aydin, B., Barbas, L.A.L., 2020. Sedative and anesthetic properties of essential oils and their active compounds in fish: A review. **Aquaculture**, 520, 734999.
<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.734999>
- Barton, B. A. 2002. Stress in Fishes: A Diversity of Responses with Particular Reference to Changes in Circulating Corticosteroids. **Integrative and Comparative Biology**, v. 42, n. 3, p. 517–525, <https://doi.org/10.1093/icb/42.3.517>
- Brito, A., Ramirez, J.E., Areche, C., Sepúlveda, B., Simirgiotis, M.J. 2014. HPLC-UV-MS profiles of phenolic compounds and antioxidant activity of fruits from three citrus species consumed in Northern Chile. **Molecules**, 19, 17400–17421.
<https://doi.org/10.3390/MOLECULES191117400>
- Chaves, M. de N. A., Neto, O. G. N., Oliveira, J. M. de., Posiadlo, I. R. G., Santos, D. R. N., & Machado, L. M. 2022. Avaliação do perfil hematológico (Eritrograma) de peixes-boi-da amazônia (*Trichechus inunguis* NATTERER, 1883) mantidos em Santarém-PA. **Brazilian Journal of Development**, v. 8, n. 5, p. 33671–33680.
<https://doi.org/10.34117/bjdv8n5-069>
- Chen, Y., Yu, H., Wu, H., Pan, Y., Wang, K., Jin, Y., Zhang, C. 2015. Characterization and quantification by LC-MS/MS of the chemical components of the heating products of the flavonoids extract in *Pollen typhae* for transformation rule exploration. **Molecules**, 20, 18352–18366.
<https://doi.org/10.3390/molecules201018352>
- Chubb, L.G. 1982. Antinutritive factors in animal feedstuffs. *In*: Haresing, W. Studies in the agricultural and food sciences butterworths. **Recent Adv. Anim. Nutr.**, 1:21-37.
- Chung, S., Lemos, C.H.D.P., Teixeira, D. V., Fortes-Silva, R., Copatti, C.E. 2020.

- Essential oil from *Ocimum basilicum* improves growth performance and does not alter biochemical variables related to stress in pirarucu (*Arapaima gigas*). **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, 92, 1–11.
<https://doi.org/10.1590/0001-3765202020181374>
- Chung, S., Ribeiro, K., Melo, J. F. B., Teixeira, D. V., Vidal, L. V. O., Copatti, C. E. 2021. Essential oil from ginger influences the growth, haematological and biochemical variables and histomorphometry of intestine and liver of Nile tilapia juveniles. **Aquaculture**, 534, 736325.
<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.736325>
- Citarasu, T. 2010. Herbal biomedicines: A new opportunity for aquaculture industry. **Aquaculture International**, 18, 403–414.
<https://doi.org/10.1007/s10499-009-9253-7>
- Da Silva, L.C.R., Furuya, W.M., Natali, M.R.M., Schamber, C.R., Dos Santos, L.D., Vidal, L.V.O. 2010. Desempenho e morfometria intestinal de juvenis de tilápia-do-Nilo alimentados com dietas suplementadas com L-glutamina e L-glutamato. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 39, 1175–1179.
<https://doi.org/10.1590/S1516-35982010000600002>
- Dardenne, P., Sinnaeve, G., Baeten, V., 2000. "Multivariate Calibration and Chemometrics for near Infrared Spectroscopy: Which Method?". *J. Near Infrared Spectrosc.* 8, 229-237. <https://opg.optica.org/jnirs/abstract.cfm?URI=jnirs-8-4-229>
- Dairiki, J.K., Majolo, C., Chagas, E.C., Chaves, F.C.M., Oliveira, M.R. de, Morais, I. da S. 2013. **Procedimento para Inclusão de Óleos Essenciais em Rações para Peixes**. *Circ. Técnica* 8.
- Dawood, M.A.O., El Basuini, M.F., Yilmaz, S., Abdel-Latif, H.M.R., Alagawany, M., Kari, Z.A., Razab, M.K.A.A., Hamid, N.K.A., Moonmanee, T., Doan, H. Van. 2022. Exploring the Roles of Dietary Herbal Essential Oils in Aquaculture: A Review. **Animals**, 12, 1–19. <https://doi.org/10.3390/ani12070823>
- De Souza, E.M., de Souza, R.C., Melo, J.F.B., da Costa, M.M., de Souza, A.M., Copatti, C.E. 2019. Evaluation of the effects of *Ocimum basilicum* essential oil in Nile tilapia diet: growth, biochemical, intestinal enzymes, haematology, lysozyme and antimicrobial challenges. **Aquaculture**, 504, 7–12.
<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.01.052>
- Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P., Vidal, N. 2006. Antioxidant activity of some algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. **Food Chemistry**, 97, 654–660.
<https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2005.04.028>
- El-Dakar, A., Hassanien, G., Gad, S., Sakr, S., 2008. Use of Dried Basil Leaves as a Feeding Attractant for Hybrid Tilapia, *Oreochromis niloticus* X *Oreochromis aureus*, Fingerlings. **Mediterranean Aquaculture Journal**, 1, 35–44.
<https://doi.org/10.21608/maj.2008.2662>
- FAO, 2022. **World Fisheries and Aquaculture**, FAO: Rome,2020.

- Fazio, F., Marafioti, S., Arfuso, F., Piccione, G., Faggio, C. 2013. Comparative study of the biochemical and haematological parameters of four wild Tyrrhenian fish species. **Veterinari Medicina**, 58, 11, p. 576–581
- Fazio, F., Ferrantelli, V., Fortino, G., Arfuso, F., Giangrosso, G., Faggio, C. 2015. The influence of acute handling stress on some blood parameters in cultured sea bream (*Sparus aurata* Linnaeus, 1758). **Italian Journal Food Safety**, 4, 4–6. <https://doi.org/10.4081/ijfs.2015.4174>
- Ferreira, A.L., dos Santos, F.A.C., Souza, A. de S., Favero, G.C., Baldisserotto, B., Pinheiro, C.G., Heinzmann, B.M., Luz, R.K. 2022. Efficacy of *Hesperozygis ringens* essential oil as an anesthetic and for sedation of juvenile tambaqui (*Colossoma macropomum*) during simulated transport. **Aquaculture International**, 30, 1549–1561. <https://doi.org/10.1007/s10499-022-00868-w>
- Grayer, R.J., Kite, G.C., Abou-Zaid, M., Archer, L.J. 2000. The application of atmospheric pressure chemical ionisation liquid chromatography-mass spectrometry in the chemotaxonomic study of flavonoids: Characterisation of flavonoids from *Ocimum gratissimum* var. *gratissimum*. **Phytochemical Analyses**, 11, 257–267. [https://doi.org/10.1002/1099-1565\(200007/08\)11:4<257::AID-PCA521>3.0.CO;2-A](https://doi.org/10.1002/1099-1565(200007/08)11:4<257::AID-PCA521>3.0.CO;2-A)
- Inoue, L.A.K.A., Moraes, G. 2007. **Óleo de cravo: um anestésico alternativo para o manejo de peixes**. Manaus: Comitê Local de Publicações - Embrapa Amazônia Ocidental, (Série Documentos 511), p. 24.
- Jomori, R.K., Carneiro, D.J., Martins, M.I.E.G., Portella, M.C. 2005. Economic evaluation of *Piaractus mesopotamicus* juvenile production in different rearing systems. **Aquaculture**, 243, 175–183. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2004.09.034>
- Kaps, M.; Lamberson, W.R. **Biostatistics for animal science**. 3 ed. Boston, MA: CABI, 2017. 547 p.
- Kincaid, C.D. Guidelines for selecting the covariance structure in mixed model analysis. **SUGI 30 Proceedings**, Paper 198–30, 10–13 April 2005, Philadelphia, Pennsylvania. <http://www2.sas.com/proceedings/sugi30/198-30.pdf>.
- Klimánková, E., Holadová, K., Hajšlová, J., Čajka, T., Poustka, J., Koudela, M. 2008. Aroma profiles of five basil (*Ocimum basilicum* L.) cultivars grown under conventional and organic conditions. **Food Chemistry**, 107, 464–472. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.07.062>
- Littell, R.C., Henry, P.R., Ammerman, C.B. 1998. Statistical analysis of repeated measures data using SAS procedures. **Journal of Animal Science**, v.76, p. 1216–1231.
- Littell, R.C., Milliken, G.A., Stroup, W.W., Wolfinger, R.D., Schabenberg, O. **SAS system for mixed models**. 2ed. Cary, NC: SAS Institute, 2006. 814p.
- Mahajan, N., Rawal, S., Verma, M., Poddar, M., Alok, S. 2013. A phytopharmacological overview on *Ocimum* species with special emphasis on *Ocimum sanctum*.

Biomedicine & Preventive Nutrition, 3, 185–192.
<https://doi.org/10.1016/j.bionut.2012.08.002>

Mansour, A.T., Diab, A.M., Khalil, R.H., Eldessouki, E.A., El-Sabbagh, N., Elsamannoudy, S.I., Younis, N.A. 2023. Physiological and immunological responses of Nile tilapia fed dietary supplementation of sweet basil ethanolic and aqueous extracts. **Frontiers Marine Science**, 9, 1–12.
<https://doi.org/10.3389/fmars.2022.1064455>

Martins, E. R., Castro, D. M., Castellani, D. C., Dias, J. E. **Plantas medicinais**. Viçosa, MG: Editora UFV, p. 220, 2000.

Marwat, S.K., Fazal-Ur-Rehman, Khan, M.S., Ghulam, S., Anwar, N., Mustafa, G., Usman, K. 2011. Phytochemical constituents and pharmacological activities of sweet Basil-*Ocimum basilicum* L. (Lamiaceae). **Asian Journal Chemistry**, 23, 3773–3782.

Menezes, C.S.M. 2019. **Óleo de buriti na produção de truta salmonada**. Tese (Doutorado) Universidade do Estado de Santa Catarina, p. 111.

Morkore, T., Moreno, H.M., Borderías, J., Larsson, T., Hellberg, H., Hatlen, B., Romarheim, O.H., Ruyter, B., Lazado, C.C., Jiménez-Guerrero, R., Bjerke, M.T., Benitez-Santana, T., Krasnov, A. 2020. Dietary inclusion of Antarctic krill meal during the finishing feed period improves health and fillet quality of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). **British Journal Nutrition**, 124, 418–431.
<https://doi.org/10.1017/S0007114520001282>

Nakatsu, T., Lupo, A.T., Chinn, J.W., Kang, R.K.L. 2000. Biological activity of essential oils and their constituents. **Stud. Nat. Prod. Chem.** 21, 571–631.
[https://doi.org/10.1016/S1572-5995\(00\)80014-9](https://doi.org/10.1016/S1572-5995(00)80014-9).

Nawaz, H., Shad, M. A., Rehman, N., Andaleeb, H., Ullah, N. 2020. Effect of solvent polarity on extraction yield and antioxidant properties of phytochemicals from bean (*Phaseolus vulgaris*) seeds. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, 56 e17129. <http://dx.doi.org/10.1590/s2175-97902019000417129>

Nguyen, V.T., Nguyen, N.Q., Thi, N.Q.N., Thi, C.Q.N., Truc, T.T., Nghi, P.T.B. 2021. Studies on chemical, polyphenol content, flavonoid content, and antioxidant activity of sweet basil leaves (*Ocimum basilicum* L.). **IOP Conf. Ser. Mater. Sci. Eng.** 1092, 012083. <https://doi.org/10.1088/1757-899x/1092/1/012083>

Nunes, A.L., Owatari, M.S., Rodrigues, R.A., Fantini, L.E., Kasai, R.Y.D., Martins, M.L., Mouriño, J.L.P., de Campos, C.M. 2020. Effects of *Bacillus subtilis* C-3102-supplemented diet on growth, non-specific immunity, intestinal morphometry and resistance of hybrid juvenile *Pseudoplatystoma* sp. challenged with *Aeromonas hydrophila*. **Aquaculture International**, 28, 2345–2361.
<https://doi.org/10.1007/s10499-020-00586-1>

OMS, 2006. Aditivos JFWE Cof. Série de Relatórios Técnicos 934: **Avaliação de Certos Aditivos Alimentares**. Organização Mundial da Saúde, Genebra, pp. http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/43408/1/WHO_TRS_934_eng.pdf.

- Osei Akoto, C., Acheampong, A., Boakye, Y.D., Naazo, A.A., Adomah, D.H. 2020. Anti-Inflammatory, Antioxidant, and Anthelmintic Activities of *Ocimum basilicum* (Sweet Basil) **Fruits Journal Chemistry**, 1–9.
<https://doi.org/10.1155/2020/2153534>
- Pansera, M.R., Santos, A.C.A., Paese, K., Wasum, R., Rossato, M., Rota, L.D., Pauletti, G.F., Serafini, L.A. 2003. Análise de taninos totais em plantas aromáticas e medicinais cultivadas no Nordeste do Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, 13, 17–22. <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2003000100002>
- Peter, S.R., Peru, K.M., Fahlman, B., McMartin, D.W., Headley, J. V. 2015. The application of HPLC ESI MS in the investigation of the flavonoids and flavonoid glycosides of a Caribbean Lamiaceae plant with potential for bioaccumulation. **J. Environ. Sci. Heal. Part B.**, 50, 819–826.
<https://doi.org/10.1080/03601234.2015.1058103>
- Piccinelli, A.L., García Mesa, M., Armenteros, D.M., Alfonso, M.A., Arevalo, A.C., Campone, L., Rastrelli, L. 2008. HPLC-PDA-MS and NMR Characterization of C - Glycosyl Flavones in a Hydroalcoholic Extract of *Citrus aurantifolia* Leaves with Antiplatelet Activity. **J. Agric. Food Chem.**, 56, 1574–1581.
<https://doi.org/10.1021/jf073485k>
- Pikulski, M., Brodbelt, J.S. 2003. Differentiation of flavonoid glycoside isomers by using metal complexation and electrospray ionization mass spectrometry. **Journal of the American Society for Mass Spectrometry.**, p. 1437–1453.
<https://doi.org/10.1016/j.jasms.2003.07.002>
- Pinto, L. G. Q., Pezzato, L. E., Miranda, E. C., Barros, M. M., Furuya, W. M. 2004. Efeito do tanino na digestibilidade dos nutrientes da ração pela tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus*. **Acta Scientiarum Animal Sciences**, v. 26, n. 2, p. 181-186.
- Ran, C., Hu, J., Liu, W., Liu, Z., He, S., Truc Dan, B.C., Diem, N.N., Ooi, E.L., Zhou, Z. 2016. Thymol and carvacrol affect hybrid tilapia through the combination of direct stimulation and an intestinal microbiota-mediated effect: Insights from a germ-free zebrafish model. **Journal of Nutrition**, 146, 1132–1140.
<https://doi.org/10.3945/jn.115.229377>
- Ranzani-Paiva, M.J.T., Pádua, S.B. de, Tavares-Dias, M., Egami, M.I. 2013. **Métodos para análise hematológica em peixes**. EDUEM.
<https://doi.org/10.7476/9788576286530>
- Reverter, M., Bontemps, N., Lecchini, D., Banaigs, B., Sasal, P. 2014. Use of plant extracts in fish aquaculture as an alternative to chemotherapy: Current status and future perspectives. **Aquaculture**, 433, 50–61.
<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2014.05.048>
- Rumengan, I.F.M., Mandey, L., Citraningtiyas, G., Luntungan, A.H. 2019. Antihyperglycemic capacity of basil (*Ocimum basilicum* L.) leaves extracts coated with the marine fish scales derived nanochitosan. **IOP Conf. Ser. Mater. Sci. Eng.** 567. <https://doi.org/10.1088/1757-899X/567/1/012023>
- Safarov, J. 2020. Comparative evaluation of phenolic and antioxidant properties of red

- and white quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) seeds. **J. Raw Mater. to Process. Foods** 1, 28–33.
- Saied, A., El-Ghoneimy, A.A., Seddek, A., Abdel-Ghafar, S.K., Morad, S.A.F. 2020. Therapeutic effectiveness of *Ocimum basilicum* extract on bovine cutaneous papillomatosis. *SVU-International J. Vet. Sci.*, 3, 60–77. <https://doi.org/10.21608/svu.2020.35596.1067>
- Sas – **Statistical Analysis System User's guide**. Cary: SAS Institute, 2002. 525p. (Version 9.00).
- Shahsavani, D., Baghshani, H., Laein, S.S. 2021. Influence of dietary basil (*Ocimum basilicum*) supplementation on growth performance, oxidative status biomarkers, and plasma biochemistry in common carp. **Comp. Clin. Path.**, 30, 973–980. <https://doi.org/10.1007/s00580-021-03296-z>
- Sonmezdag, A.S., Amanpour, A., Kelebek, H., Selli, S. 2018. The most aroma-active compounds in shade-dried aerial parts of basil obtained from Iran and Turkey. **Industrial Crops and Products**, 124, 692–698. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.08.053>
- Urbinati, E.C; Takahashi, L.S. Pacu (*Piaractus mesopotamicus*) In: **Espécies nativas para a piscicultura no Brasil**. Bernardo Baldisserotto (org.). 3 ed. Santa Maria: Ed.UFSM, 2020.
- Uritu, C.M., Mihai, C.T., Stanciu, G.D., Dodi, G., Alexa-Stratulat, T., Luca, A., Leon-Constantin, M.M., Stefanescu, R., Bild, V., Melnic, S., Tamba, B.I. 2018. Medicinal plants of the family Lamiaceae in pain therapy: A review. **Pain Research Management**, 1–44. <https://doi.org/10.1155/2018/7801543>
- Vaseeharan, B., Thaya, R. 2014. Medicinal plant derivatives as immunostimulants: An alternative to chemotherapeutics and antibiotics in aquaculture. **Aquaculture International**, 22, 1079–1091. <https://doi.org/10.1007/s10499-013-9729-3>
- Ventura, A.S., Corrêa Filho, R.A.C., Cardoso, C.A.L., Stringhetta, G.R., de Oliveira Brasileiro, L., Ribeiro, J.S., Pereira, S.A., Jerônimo, G.T., Povh, J.A. 2023. *Ocimum basilicum* essential oil in pacu *Piaractus mesopotamicus*: anesthetic efficacy, distribution, and depletion in different tissues. **Veterinary Research Communications**, <https://doi.org/10.1007/s11259-023-10225-8>
- Ventura, A.S., Gabriel, A.M. de A., Gandra, J.R., Noia, I.Z., Povh, J.A., Jerônimo, G.T. 2021a. Thermal dynamics and physiological implications in pacu *Piaractus mesopotamicus* anaesthetised with *Ocimum basilicum* essential oil. **International Aquatic Research**, 13, 261–270. <https://doi.org/10.22034/IAR.2021.1938212.1183>
- Ventura, A.S., Jerônimo, G.T., Corrêa Filho, R.A.C., Souza, A.I. de, Stringhetta, G.R., Cruz, M.G. da, Torres, G. dos S., Gonçalves, L.U., Povh, J.A. 2021b. *Ocimum basilicum* essential oil as an anesthetic for tambaqui *Colossoma macropomum*: Hematological, biochemical, non-specific immune parameters and energy metabolism. **Aquaculture**, 533. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.736124>
- Ventura, A.S., Jerônimo, G.T., de Oliveira, S.N., de Araújo Gabriel, A.M., Cardoso,

- C.A.L., Teodoro, G.C., Corrêa Filho, R.A.C., Povh, J.A. 2020. Natural anesthetics in the transport of Nile tilapia: Hematological and biochemical responses and residual concentration in the fillet. **Aquaculture**, 526, 735365. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735365>
- Wolfinger, R.; Chang, M. **Comparing the SAS GLM and mixed procedures for repeated measures**. In: SUGI Proceedings of the Twentieth Annual SAS Users Group Conference. Cary (NC): SAS Institute, 1995. <http://www.ats.ucla.edu/stat/sas/library/mixedglm.pdf>.
- Woody, C. A.; Nelson, J.; Ramstad, K. 2002. Clove oil as an anaesthetic for adult sockeye salmon: field trails. **Journal of Fish Biology**, v. 60, n. 2, p. 340-347.
- Yigit, N.O., Metin, S., Sabuncu, O.F., Didinen, B.I., Didinen, H., Ozmen, O., Koskan, O., 2022. Efficiency of *Ocimum basilicum* and *Eucalyptus globulus* essential oils on anesthesia and histopathology of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. **Journal World Aquatic Society**., 53, 1051–1061. <https://doi.org/10.1111/jwas.12911>
- Yuan, Y., Hou, W., Tang, M., Luo, H., Chen, L.J., Guan, Y.H., Sutherland, I.A. 2008. Separation of flavonoids from the leaves of *Oroxylum indicum* by HSCCC. **Chromatographia**, 68, 885–892. <https://doi.org/10.1365/s10337-008-0859-0>
- Zeng, Z., Zhang, S., Wang, H., Piao, X., 2015. Essential oil and aromatic plants as feed additives in non-ruminant nutrition: A review. **Journal Animal Science Biotechnology**, 6. <https://doi.org/10.1186/s40104-015-0004-5>