



UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

MARCUS VINICIUS LIMA CALDAS

**Limites de segurança e aplicação anestésica do óleo essencial de *Dizygostemon riparius*
em Tambaqui e sua relação com o perfil químico dos constituintes voláteis**

São Luís - MA

2026

MARCUS VINICIUS LIMA CALDAS

Limites de segurança e aplicação anestésica do óleo essencial de *Dizygostemon riparius* em Tambaqui e sua relação com o perfil químico dos constituintes voláteis

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Química da Universidade Federal do Maranhão para a obtenção do título de Mestre em Química.

Orientador: Prof. Dr. Odair dos Santos Monteiro

Coorientadora: Profa. Dra. Jane Mello Lopes

Ficha gerada por meio do SIGAA/Biblioteca com dados fornecidos pelo(a) autor(a).
Diretoria Integrada de Bibliotecas/UFMA

Caldas, Marcus Vinicius Lima.

Limites de segurança e aplicação anestésica do óleo essencial de *Dizygostemon riparius* em Tambaqui e sua relação com o perfil químico dos constituintes voláteis / Marcus Vinicius Lima Caldas. - 2026.

59 f.

Coorientador(a) 1: Jane Mello Lopes.

Orientador(a): Odair dos Santos Monteiro.

Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em Química/ccet, Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2026.

1. Melosa. 2. Anestesia. 3. Tambaqui. 4. Aquicultura Sustentável. I. Lopes, Jane Mello. II. Monteiro, Odair dos Santos. III. Título.

MARCUS VINICIUS LIMA CALDAS

Limites de segurança e aplicação anestésica do óleo essencial de *Dizygostemon riparius* em Tambaqui e sua relação com o perfil químico dos constituintes voláteis

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Química da Universidade Federal do Maranhão para a obtenção do título de Mestre em Química. Orientador:

Prof. Dr. Odair dos Santos Monteiro

Aprovado em: 24 de fevereiro de 2026

Prof. Dr. Odair dos Santos Monteiro
(Orientador – PPGQUIM/UFMA)

Prof.^a. Dr.^a. Carla Janaína Rebouças Marques do Rosário
(Membro externo – DCVET/UEMA)

Prof.^a. Dr.^a Rafaely Nascimento Lima
(Membro interno – DEQUI)

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho às pessoas que conheci e conheço que, mesmo carregando inteligência, sensibilidade e um profundo desejo de aprender, não tiveram acesso ao estudo formal. Suas trajetórias, atravessadas por limites sociais, econômicos ou circunstanciais, revelam saberes que não cabem em diplomas. São histórias que silenciosamente ensinam, que provocam reflexão, despertam responsabilidade e transformam a motivação em compromisso

AGRADECIMENTOS

Agradeço, antes de tudo, aos meus amigos, pela amizade, compreensão e apoio nos momentos em que o caminho da pesquisa se mostrou desafiador. Cada palavra de incentivo e cada gesto de carinho foram fundamentais para que eu chegasse até aqui.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Odair Monteiro, pela orientação, paciência e confiança depositada em mim ao longo desta caminhada.

À Profa. Dra. Jane Mello Lopes e seus Alunos, de Chapadinha, pelo incentivo, pela escuta e pelas contribuições valiosas que, de diferentes formas, ajudaram a amadurecer este trabalho.

Aos colegas do Laboratório de Química de Produtos Naturais (LQPN), pela parceria, pelas conversas produtivas e também pelos momentos de descontração que tornaram o ambiente de trabalho mais leve e acolhedor.

Ao Programa de Pós-Graduação em Química PPGQuim-UFMA, pela oportunidade de crescimento acadêmico e científico, e a todos os professores e técnicos que, direta ou indiretamente, contribuíram para minha formação.

Por fim, agradeço à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro, essencial para a realização desta pesquisa.

RESUMO

O uso de anestésicos na aquicultura é importante para reduzir o estresse e minimizar danos aos peixes durante procedimentos de manejo, como biometria, transporte, marcação e coleta de material biológico, contribuindo para o bem-estar animal e uma aquicultura sustentável. Nesse contexto, compostos de origem natural, como óleos essenciais, têm sido investigados como possíveis alternativas. *Dizygostemon riparius*, conhecida como melosa, é uma espécie aromática pertencente à família Plantaginaceae e endêmica do estado do Maranhão, cujo óleo essencial ainda é pouco explorado quanto às suas aplicações na aquicultura. Assim, o objetivo deste estudo foi caracterizar quimicamente o óleo essencial de *Dizygostemon riparius* e avaliar seus efeitos comportamentais e a toxicidade aguda em juvenis de *Colossoma macropomum* (tambaqui) de diferentes classes de tamanho. O óleo essencial foi obtido por hidrodestilação das folhas e caracterizado por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM), permitindo a identificação de 32 constituintes, com predominância de monoterpenos oxigenados. Os compostos majoritários foram o acetato de endo-fenchil (42,66%) e o endo-fenchol (34,88%), que juntos representaram mais de 70% da composição total do óleo. A avaliação toxicológica revelou resposta dependente da concentração e do tamanho dos animais. Em peixes de menor porte ($\approx 3,3$ g), observou-se toxicidade aguda a partir de aproximadamente $46,9 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, com mortalidade total em concentrações próximas de $70 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. Em peixes de maior porte (≈ 15 g), não foi observada mortalidade nas condições avaliadas. Nos ensaios comportamentais, o OEDr produziu efeitos sedativos e anestésicos dependentes da concentração: concentrações entre 75 e $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ estiveram associadas à sedação, enquanto cerca de $120 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ promoveu anestesia, com redução do tempo de indução à medida que a dose aumentou e aumento do tempo de recuperação em concentrações mais elevadas. Esses resultados indicam dependência de dose e de tamanho corporal. As conclusões deste estudo restringem-se à avaliação de toxicidade aguda e parâmetros comportamentais, sendo necessários estudos adicionais incluindo avaliações subcrônicas ou crônicas, farmacocinéticas, de resíduos, histopatológicas, reprodutivas e ambientais para uma apreciação mais abrangente da aplicabilidade do óleo essencial de *D. riparius* na aquicultura.

Palavras-chave: Melosa; anestesia, tambaqui, aquicultura sustentável

ABSTRACT

The use of anesthetics in aquaculture is important to reduce stress and minimize physical damage to fish during management procedures such as biometrics, transportation, marking, and biological sampling, contributing to animal welfare. In this context, natural compounds such as essential oils have been investigated as possible alternatives. *Dizygostemon riparius*, known as “melosa”, is an aromatic species belonging to the Plantaginaceae family and endemic to the state of Maranhão, Brazil, whose essential oil remains little explored regarding its applications in aquaculture. Thus, the objective of this study was to chemically characterize the essential oil of *Dizygostemon riparius* and evaluate its behavioral effects and acute toxicity in juveniles of *Colossoma macropomum* from different size classes. The essential oil was obtained by hydrodistillation of the leaves and characterized by gas chromatography coupled with mass spectrometry (GC–MS), allowing the identification of 32 constituents, with predominance of oxygenated monoterpenes. The major compounds were endo-fenchyl acetate (42.66%) and endo-fenchol (34.88%), which together represented more than 70% of the total oil composition. Toxicological evaluation revealed a response dependent on concentration and fish size. In smaller fish (≈ 3.3 g), acute toxicity was observed from approximately $46.9 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, with total mortality at concentrations close to $70 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. In larger fish (≈ 15 g), no mortality was observed under the evaluated conditions. In behavioral assays, the essential oil produced concentration-dependent sedative and anesthetic effects: concentrations between 75 and $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ were associated with sedation, while approximately $120 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ induced anesthesia, with shorter induction times as dose increased and longer recovery times at higher concentrations. These results indicate dose- and body size-dependent responses and suggest an association between the chemical profile of the oil and the observed effects. The conclusions of this study are limited to the evaluation of acute toxicity and behavioral parameters, and further studies including subchronic or chronic toxicity, pharmacokinetics, residue analysis, histopathological, reproductive, and environmental assessments are required for a broader evaluation of the applicability of *D. riparius* essential oil in aquaculture.

Keywords: Melosa; anesthesia; tambaqui; sustainable aquaculture.

INTEGRAÇÃO DA PESQUISA AOS OBJETIVOS DE DESENVOLVIMENTO SUSTENTÁVEL

A pesquisa sobre o óleo essencial de *Dizygostemon riparius* demonstra forte alinhamento com os Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS), ao integrar conhecimento científico, valorização da biodiversidade e aplicação tecnológica. Destaca-se sua contribuição para o Objetivos de Desenvolvimento Sustentável, especialmente no âmbito do ODS 12 (Consumo e Produção Responsáveis), ao propor o uso de um recurso natural como alternativa a anestésicos sintéticos na aquicultura. Além disso, a investigação dialoga com o ODS 14 (Vida na Água), ao promover práticas mais seguras e sustentáveis no manejo de espécies como o *Colossoma macropomum*, reduzindo impactos ambientais e riscos à fauna aquática. A valorização de uma espécie endêmica do Maranhão também se articula com o ODS 15 (Vida Terrestre), ao incentivar o uso sustentável da biodiversidade regional. Do ponto de vista social e econômico, a pesquisa contribui para o ODS 8 (Trabalho Decente e Crescimento Econômico), ao abrir possibilidades para o desenvolvimento de bioprodutos inovadores com potencial de aplicação na cadeia produtiva da aquicultura. Dessa forma, o estudo evidencia como a ciência pode atuar como vetor de sustentabilidade, integrando conservação ambiental, inovação tecnológica e desenvolvimento regional.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. <i>Dizygostemon riparius</i>	21
Figura 2. Esquema metodológico do ensaio de toxicidade aguda com OEDr em juvenis de tambaqui (<i>Colossoma macropomum</i>). O diagrama detalha os três grupos biométricos, as concentrações testadas e os parâmetros monitorados durante a exposição de 6 horas.....	35
Figura 3. Fluxograma experimental do potencial anestésico do OEDr em juvenis de tambaqui. O esquema ilustra as etapas de aclimação (jejum), as concentrações (35 a 130 mg·L ⁻¹), o processo de indução e recuperação anestésica, e o monitoramento pós-teste.....	36
Figura 4. Estruturas químicas dos principais constituintes identificados.....	40
Figura 5. Resposta dos peixes do grupo 1 à exposição ao óleo essencial de <i>Dizygostemon ripariu</i> sem diferentes concentrações durante 6 horas n=4.....	42
Figura 6. Tempo médio (min) até <i>sedação</i> e anestesia no grupo 3 expostos ao OEDr.....	45
Figura 7. Tempos médios ($\pm$ desvio-padrão) de <i>sedação</i> , anestesia e recuperação de peixes expostos ao OEDr.....	45

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Mecanismos de ação de constituintes de óleos essenciais em peixes.....	27
Tabela 2. Estágios de sedação, anestesia e recuperação.....	37
Tabela 3. Parâmetros físico-químicos do OEDr.....	38
Tabela 4. Constituintes identificados no OEDr por CG-EM.....	39
Tabela 5. Efeitos comportamentais de tambaqui do grupo 2 expostos ao OEDr em diferentes concentrações durante 6 horas. Os valores representam a média $\pm$ desvio padrão de quatro repetições (n=2).....	44
Tabela 6. Efeitos comportamentais de tambaqui grupo 3 expostos ao OEDr em diferentes concentrações durante 6 horas. Os valores representam a média $\pm$ desvio padrão de quatro repetições (n=2).....	44
Tabela 7. Tempos médios de sedação, anestesia e recuperação em diferentes concentrações do OEDr.....	46

LISTA DE ABREVIATURA E SIGLAS

CG-EM – Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas

DP – Desvio Padrão

E1, E2, E3 – Estágios de sedação, anestesia e recuperação

IR_a / IR_b – Índices de retenção experimental / da literatura

CL₅₀ – Concentração Letal para 50% dos organismos

MS-222 – Tricaína metanossulfonato

NIST – National Institute of Standards and Technology

OE_s – Óleos Essenciais

OED_r – Óleo Essencial de *Dizygostemon riparius*

UFMA – Universidade Federal do Maranhão

SUMARIO

1. Introdução	14
2. Objetivos	16
2.1 Geral	16
2.2 Especifico	16
3. Revisão de literatura	16
3.1 Família plantaginacea	16
3.2 Gênero <i>Dizygostemon</i>	18
3.3 Uso dos óleos essenciais como anestésicos em peixes	21
3.4 Toxicidade de compostos naturais em peixes.....	23
3.5 Mecanismos de ação anestésica de óleos essenciais em peixes	26
3.6 Perspectivas biotecnológicas e sustentáveis dos anestésicos naturais na aquicultura	28
3.7 Alinhamento do estudo com os Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS)....	30
4. Metodologia	31
4.1 Peixes e condições de cultivo	32
4.2 Parâmetros físico-químicos da água	32
4.4 Teste de toxicidade aguda.....	33
4.5 Ensaio de atividade sedativa e anestésica do óleo essencial de <i>Dizygostemon riparius</i>	35
4.6 Análise de dados	37
5. Resultados e Discussão	37
5.1 Caracterização Físico-química do óleo essencial de <i>Dizygostemon riparius</i>	37
5.2 Constituintes químicos	38
5.3 Avaliação da toxicidade e propriedades anestésica do óleo essencial da <i>Dizygostemon riparius</i>	41
6. Relação com o perfil químico dos constituintes voláteis	48
7. Conclusão	50
REFERÊNCIAS	51

1. Introdução

Nos últimos anos, a aquicultura tem se consolidado como uma das principais alternativas para suprir a crescente demanda mundial por pescado (Minaz et al., 2024). Esse avanço trouxe consigo novos desafios, entre eles o manejo adequado dos animais durante processos como transporte, biometria, reprodução induzida ou mesmo em experimentos de laboratório. Nessas situações, a utilização de anestésicos é importante, pois contribui para a redução do estresse, diminui o risco de ferimentos e pode favorecer o bem-estar dos peixes, quando empregada de forma adequada (Espinoza-Ramos et al., 2025; Minaz et al., 2024; Espinoza-Ramos et al., 2025; Minaz et al., 2024). Até hoje, substâncias sintéticas como a benzocaína, a tricaína metanossulfonato (MS-222) e a quinaldina têm sido amplamente usadas com esse objetivo (Hong et al., 2022). No entanto, essas drogas apresentam limitações importantes: podem deixar resíduos nos tecidos animais (Lin et al., 2024), representar riscos ao consumidor (Zhang et al., 2023a), ser tóxicas para o ambiente e ainda possuem custo elevado (Félix et al., 2018).

Diante desse cenário, cresce o interesse por alternativas naturais que possam substituir ou complementar os anestésicos convencionais. Entre essas alternativas, destacam-se os óleos essenciais, compostos aromáticos produzidos por plantas e ricos em moléculas voláteis, como monoterpenos e sesquiterpenos. Esses óleos vêm chamando atenção por sua diversidade química e pelas inúmeras atividades biológicas que apresentam, incluindo ação antimicrobiana, antioxidante, sedativa e anestésica (Aydın; Barbas, 2020; Da Cunha; Heinzmann; Baldisserotto, 2018). O que os torna particularmente atrativos para a aquicultura é o fato de serem biodegradáveis, geralmente seguros em baixas doses e com baixa probabilidade de deixar resíduos nocivos (Fortes et al., 2024b; Yigit et al., 2022a).

Diversos trabalhos já demonstraram o potencial anestésico de óleos essenciais em peixes. Moléculas como o linalol, o cineol, o citral e o eugenol, por exemplo, são capazes de modular o sistema nervoso central, promovendo desde uma sedação leve até uma anestesia profunda (De Freitas Souza et al., 2018; Xu et al., 2021; Yigit et al., 2022b). No entanto, é importante lembrar que esses mesmos compostos, em concentrações mais altas, podem gerar efeitos

indesejados, como dificuldades respiratórias, alterações cardíacas ou até mortalidade (Tao et al., 2023b; Xu et al., 2021). Por isso, compreender o limite entre o efeito terapêutico e o tóxico é essencial para que o uso seja seguro e eficiente.

Ao mesmo tempo, associar os efeitos observados ao perfil químico do óleo essencial é um passo importante para entender a ação anestésica (Benovit et al., 2015; De Freitas Souza et al., 2018; Yigit et al., 2022b). Essa relação pode abrir caminho para identificar constituintes promissores, orientar o uso de determinadas plantas e até mesmo inspirar o desenvolvimento de novos fármacos (Fortes et al., 2024c; Haihambo et al., 2024; Kheawfu et al., 2022).

O Brasil, com sua imensa biodiversidade, oferece um terreno rico para pesquisas com espécies vegetais pouco exploradas. Muitas plantas aromáticas guardam grande potencial como fonte de compostos bioativos, mas ainda são pouco conhecidas. Um exemplo é *Dizygostemon riparius*, da família plantaginacea, encontrada em algumas regiões do país e utilizada tradicionalmente pela população local. Estudos indicam que o óleo essencial dessa espécie possui uma composição química complexa, rica em monoterpenos e sesquiterpenos, e apresenta atividades biológicas interessantes, como ação antimicrobiana e larvicida (Galvão; Others, 2021; Sousa, 2023). No entanto, pouco se sabe sobre seus efeitos no contexto da aquicultura, mostrando que ainda há muito a investigar para compreender seu potencial nessa área (Brandão et al., 2020; Corrêa; Others, 2022).

Estudar o óleo essencial de *D. riparius* sob a perspectiva de seus efeitos tóxicos e anestésicos é, portanto, uma oportunidade não apenas de contribuir para protocolos mais sustentáveis de manejo de peixes, mas também de valorizar uma planta nativa e ampliar o conhecimento sobre a biodiversidade brasileira. Além do aspecto aplicado, compreender a relação entre os constituintes voláteis e a bioatividade desse óleo ajuda a responder questões científicas relevantes sobre os mecanismos de ação envolvidos.

Nesse contexto, o presente estudo propõe-se a avaliar os efeitos tóxicos e sedativos/anestésicos do óleo essencial de *Dizygostemon riparius* em *Colossoma macropomum*, relacionando esses efeitos com o perfil químico do óleo e com a concentração empregada, bem como com o tamanho corporal dos animais. A abordagem adotada busca caracterizar a resposta dose-dependente e identificar limites entre sedação, anestesia e

toxicidade aguda, fornecendo dados experimentais sobre o comportamento biológico do óleo nessas condições. Busca-se, com isso, gerar subsídios técnico-científicos que viabilizem o desenvolvimento de subsídios experimentais para a avaliação de alternativas naturais aos anestésicos sintéticos convencionais na aquicultura, ao mesmo tempo em que se ressalta a relevância do estudo de espécies aromáticas nativas do bioma Cerrado e o potencial da biodiversidade brasileira como fonte sustentável de inovação tecnológica para a piscicultura.

2. Objetivos

2.1 Geral

Avaliar os efeitos tóxicos e anestésicos das folhas do óleo essencial de *Dizygostemon riparius* em peixes da espécie *Colossoma macropomum*, relacionando sua atividade biológica com o perfil químico de seus constituintes voláteis.

2.2 Específico

- Caracterizar o óleo essencial de *D. riparius* quanto à composição volátil e aos principais constituintes químicos;
- Avaliar a eficácia anestésica e os tempos de indução e recuperação em diferentes concentrações;
- Determinar a faixa de segurança de uso, incluindo CL_{50} e sinais de toxicidade subletal;
- Relacionar a composição química aos efeitos observados, visando identificar potenciais marcadores de atividade.

3. Revisão de literatura

3.1 Família plantaginacea

A família Plantaginaceae pertence à ordem Lamiales e compreende aproximadamente 90 gêneros e mais de 1.700 espécies distribuídas principalmente em regiões temperadas e tropicais do mundo. Tradicionalmente, muitos gêneros dessa família eram classificados como parte da Scrophulariaceae, mas estudos filogenéticos recentes, baseados em análises

moleculares de DNA, demonstraram que a circunscrição tradicional não refletia a verdadeira relação evolutiva entre os grupos, levando à reclassificação e à consolidação da família Plantaginaceae como um grupo monofilético. Essa revisão taxonômica evidenciou a importância da filogenia molecular na sistemática botânica e no entendimento das relações entre os diferentes gêneros (Zhang et al., 2023b).

As espécies de Plantaginaceae apresentam grande diversidade morfológica. São predominantemente plantas herbáceas, mas a família também inclui subarbustos e arbustos, sendo algumas espécies adaptadas a ambientes extremos, como regiões áridas e montanhosas (Zhang et al., 2023c). As folhas são simples, podendo ser alternas ou opostas, com margens variáveis e nervação reticulada. As flores, geralmente pequenas, apresentam corola tubulosa, frequentemente bilabiada, e cinco estames na maioria das espécies. O fruto típico é uma cápsula ou núcula, contendo sementes pequenas, muitas vezes adaptadas à dispersão anemocórica ou barocórica, o que facilita a colonização de novos ambientes (Petruzzello, 2023; Wetherwax, 2020; World Flora Online, 2024).

Do ponto de vista químico, a família Plantaginaceae é rica em metabólitos secundários, com destaque para os iridoides, compostos conhecidos por suas propriedades anti-inflamatórias, hepatoprotetoras e imunomoduladoras (Aly Shaza H. and Thabet, 2025; Mihaylova et al., 2025). Flavonoides e fenilpropanoides também são comuns, sendo associados a atividades antioxidantes, antimicrobianas e antivirais (Zhakipbekov et al., 2023a). Algumas espécies produzem óleos essenciais, geralmente ricos em monoterpenos e sesquiterpenos, que contribuem para efeitos antimicrobianos e aromáticos (Golkar; Fotoohi; Ghorbanpour, 2025). Além disso, glicosídeos e taninos estão presentes em muitas espécies, conferindo propriedades adstringentes e terapêuticas. A composição química varia significativamente entre os gêneros e mesmo entre populações de uma mesma espécie, o que influencia diretamente a atividade biológica dos metabolitos secundários (Galvão et al., 2023).

A diversidade química da família está correlacionada com diversas atividades farmacológicas. Estudos demonstram que extratos de Plantaginaceae possuem propriedades anti-inflamatórias, antioxidantes, antimicrobianas, analgésicas e sedativas. (Farid et al.,

2022; Turel et al., 2009; Zhakipbekov et al., 2023b) Espécies como *Plantago major*, *Plantago lanceolata* (Al-Hussainy; Idbaees; Rhuda, 2022; Kurt et al., 2018) e *Digitalis grandiflora* (Kutluay et al., 2019) são tradicionalmente utilizadas na fitoterapia para tratar feridas, inflamações, problemas gastrointestinais e problemas no coração, evidenciando a relevância etnobotânica do grupo. Além disso, a presença de compostos bioativos confere potencial para aplicações em cosméticos, produtos naturais e fitofármacos (Amin et al., 2025).

A distribuição geográfica da família Plantaginaceae é ampla, abrangendo regiões temperadas, subtropicais e tropicais, com maior diversidade em áreas temperadas do Hemisfério Norte (Hoggard et al., 2003; MEUDT; SIMPSON, 2006). Essa ampla distribuição está relacionada à capacidade adaptativa de várias espécies, que desenvolveram mecanismos de resistência a diferentes condições ambientais, como seca, frio e solos pobres em nutrientes (Christie et al., 2022, 2023; Lyu et al., 2023). O estudo dessas adaptações é importante não apenas do ponto de vista ecológico, mas também para a exploração sustentável de espécies com potencial medicinal.

Apesar do crescente conhecimento sobre química e farmacologia de algumas espécies, muitas ainda são pouco estudadas, especialmente aquelas nativas de regiões tropicais e subtropicais. Há uma lacuna significativa em estudos que relacionem diretamente o perfil químico com a atividade biológica, o que limita a compreensão do potencial terapêutico completo do grupo (Golkar; Fotoohi; Ghorbanpour, 2025; Heinrich, 2003).

Em síntese, a família Plantaginaceae representa um grupo botânico de grande interesse científico e farmacológico. Sua diversidade morfológica, química e biológica, aliada à ampla distribuição geográfica, oferece oportunidades significativas para estudos sobre novos compostos bioativos e suas aplicações terapêuticas. A integração de estudos filogenéticos, químicos e farmacológicos é essencial para compreender plenamente o potencial dessa família e para fomentar a utilização sustentável de suas espécies em benefício da sociedade.

3.2 Gênero *Dizygostemon*

O gênero *Dizygostemon* Radlk. ex Wettst. pertence à tribo Gratioleae, dentro da família Plantaginaceae, e apresenta ocorrência restrita ao nordeste do Brasil (Royal Botanic Gardens Kew, 2025a). Sua história taxonômica remonta ao século XIX, quando Bentham (1846) descreveu inicialmente o grupo como uma seção do gênero *Beyrichia*, sendo posteriormente elevado ao status de gênero independente por Wettstein, com *Beyrichia floribunda* Benth. estabelecida como espécie-tipo (Scatigna et al., 2019). Desde então, a delimitação das espécies passou por revisões e ajustes, como no caso de *Dizygostemon angustifolius*, descrita por Giulietti, mas posteriormente considerada sinônimo de *D. floribundus* por Souza e Giulietti (2009) (JSTOR Global Plants, 2025; Royal Botanic Gardens Kew, 2025b; Souza; Giulietti, 2009). Esse histórico reflete a complexidade morfológica e a necessidade de estudos detalhados para melhor compreender a diversidade dentro do grupo.

Atualmente, três espécies são reconhecidas no gênero: *Dizygostemon floribundus* (Benth.) Radlk., a espécie mais conhecida e amplamente distribuída (International Plant Names Index (IPNI), 2025); *Dizygostemon angustifolius* Giul., frequentemente tratada como sinônimo da anterior (Souza; Giulietti, 2009); e *Dizygostemon riparius* Scatigna & Colletta (Scatigna et al., 2019), descrita recentemente em 2019 a partir de coletas realizadas no estado do Maranhão. A descoberta desta última reforça a importância das coletas botânicas em regiões ainda pouco exploradas, revelando espécies com características únicas e potencial relevância ecológica e química.

Do ponto de vista morfológico, *Dizygostemon* compreende plantas herbáceas ou subarborescentes que apresentam variações de hábito em função do ambiente. As flores são tipicamente bibracteoladas, com pedicelo curto e presença de brácteolas, um caráter diagnóstico para o gênero. Uma das características mais marcantes encontra-se no androceu: há quatro estames férteis, sendo o par anterior monoteco, enquanto o par posterior apresenta anteras bitecas com conectivo bí-bráquiado. Essa peculiaridade diferencia *Dizygostemon* de gêneros próximos, como *Achetaria*, *Stemodia* e *Tetraulacium*, dentro da mesma tribo Gratioleae. Outras diferenças diagnósticas incluem o tubo da corola parcialmente ocluído pelo palato inflado do lábio inferior, que toca o lábio superior, além de variações no

indumento e no tamanho das sépalas e folhas, características que permitem distinguir espécies entre si (Scatigna et al., 2019).

O gênero apresenta distribuição estritamente neotropical, sendo endêmico da região nordeste do Brasil, com ocorrência em ambientes de elevada diversidade ecológica. Enquanto *D. floribundus* se encontra em uma faixa geográfica mais ampla, *D. riparius* possui distribuição limitada, ocorrendo predominantemente nas margens de rios sujeitas a alagamentos periódicos no estado do Maranhão. Essa relação com habitats ribeirinhos evidencia a relevância do gênero para a manutenção dos ecossistemas locais, bem como sua sensibilidade frente a alterações ambientais, como desmatamento e alterações no regime de inundação. Por conta disso, *D. riparius* foi considerada “Em Perigo” (EN) pela IUCN, em função do número restrito de populações conhecidas e da degradação contínua de seu habitat (Scatigna et al., 2019).

Além do interesse taxonômico e ecológico, o gênero *Dizygostemon* também vem despertando atenção do ponto de vista químico e farmacológico (Brandão et al., 2020). Estudos recentes com *D. riparius* revelaram que a espécie é aromática, apresentando óleos essenciais em seus órgãos aéreos (Brandão et al., 2020). A composição química desses óleos incluiu compostos como acetato de endo fenchila, endo-fenchol, (E)-cariofileno e cariofileno oxide (Brandão et al., 2020). Ensaio biológicos preliminares demonstraram atividade larvicida contra *Aedes albopictus*, mosquito vetor de arboviroses como dengue e chikungunya, o que evidencia o potencial do gênero como fonte de moléculas bioativas de interesse em saúde pública (Brandão et al., 2020). Além disso, estudos sazonais e circadianos demonstraram que a composição química do óleo essencial de *D. riparius* varia em função de fatores ambientais, sugerindo plasticidade metabólica e reforçando a necessidade de investigações mais amplas sobre as condições ideais para seu aproveitamento biotecnológico (Galvão et al., 2023; Sousa, 2023).

Apesar dos avanços, ainda existem importantes lacunas no conhecimento sobre *Dizygostemon raparius*. Do ponto de vista filogenético, não há estudos moleculares aprofundados que confirmem a monofilia do gênero e suas relações evolutivas com outros representantes da tribo Gratioleae. Também carecemos de dados sobre ecologia reprodutiva,

interações com polinizadores, mecanismos de dispersão de sementes e respostas a estresses ambientais.

Em síntese, o gênero *Dizygostemon* representa um grupo restrito, mas de grande relevância botânica, ecológica e farmacológica. Sua distribuição limitada, associada à degradação dos ecossistemas do nordeste brasileiro, torna urgente a realização de estudos de conservação. Paralelamente, a presença de óleos essenciais com atividade larvívora evidencia um promissor potencial biotecnológico, que pode contribuir tanto para a valorização da biodiversidade regional quanto para o desenvolvimento de alternativas sustentáveis no combate a vetores de doenças. Assim, investigações integradas envolvendo taxonomia, ecologia, filogenia e química de *Dizygostemon* são fundamentais para ampliar a compreensão e o aproveitamento deste gênero endêmico do Brasil.

Figura 1-*Dizygostemon riparius*



Fonte: UFMA (2025).

3.3 Uso dos óleos essenciais como anestésicos em peixes

O uso de anestésicos é uma prática fundamental na piscicultura e em pesquisas com peixes, por reduzir o estresse e a mortalidade durante procedimentos como biometrias, transporte, indução reprodutiva, coleta de gametas e experimentos científicos (Fortes et al., 2024a; Rodrigues Brandão et al., 2022a). Tradicionalmente, compostos sintéticos como a benzocaína e o eugenol (de origem natural, mas também disponível em forma sintética), têm sido os anestésicos mais empregados (Aydın, 2022; Boaventura et al., 2022). No entanto, tais

agentes apresentam limitações significativas, como toxicidade em doses elevadas, risco de acúmulo de resíduos nos tecidos, custo elevado em determinados contextos e crescente preocupação regulatória quanto ao seu uso em sistemas de produção destinados ao consumo humano (Félix; Monteiro; Venâncio, 2025a, 2025b; STRINGHETTA et al., 2017).

Nesse cenário, tem crescido o interesse pela utilização de plantas medicinais e seus óleos essenciais como alternativas naturais para anestesia em peixes. Esses produtos de origem vegetal apresentam a vantagem de serem, em geral, de baixo custo, acessíveis e com menor impacto ambiental, além de poderem ser obtidos a partir da biodiversidade local (Aydın; Barbas, 2020; Hoseini; Taheri Mirghaed; Yousefi, 2019). Diversas espécies vegetais têm sido estudadas devido ao seu conteúdo de metabólitos secundários, como monoterpenos, sesquiterpenos e compostos fenólicos, que interagem com o sistema nervoso central, promovendo efeitos sedativos e anestésicos. (Fortes et al., 2024a; Rodrigues Brandão et al., 2022b; Yigit et al., 2022a)

Entre os exemplos mais estudados encontram-se os óleos essenciais de *Lippia alba* (erva-cidreira), *Ocimum gratissimum* (alfavaca-cravo) (Lam et al., 2025), *Cymbopogon citratus* (capim-limão) (Kizak et al., 2018), *Mentha piperita* (hortelã-pimenta) (Metin; Ozdikyar; Telci, 2025) e *Aloysia triphylla* (erva-lúisa) (Parodi et al., 2014). Esses óleos demonstraram eficácia em diferentes espécies de peixes, proporcionando indução anestésica rápida e recuperação eficiente, sem efeitos colaterais graves quando aplicados em concentrações adequadas. O óleo essencial de *Lippia alba*, por exemplo, possui citral e linalol como compostos principais e já foi testado em peixes tropicais, com resultados satisfatórios em termos de sedação e manutenção da fisiologia dos animais (De Freitas Souza et al., 2018; Dos Santos Batista et al., 2018).

No Brasil, onde a piscicultura se consolida como uma das principais atividades aquícolas da América Latina, o uso de anestésicos naturais tem ganhando relevância. Espécies nativas e exóticas cultivadas no país - como a tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*), o tambaqui (*Colossoma macropomum*), o pacu (*Piaractus mesopotamicus*) e o pirarucu (*Arapaima gigas*) já foram alvo de estudos com diferentes extratos e óleos vegetais. Pesquisas nacionais demonstram que óleos essenciais de espécies aromáticas, seja de cultivo ou de ocorrência espontânea no território, representam alternativas viáveis e sustentáveis para

substituir anestésicos sintéticos (Brandão, 2020; Da Silva Costa et al., 2022; Façanha; Gomes, 2005; Medeiros-Silva et al., 2014).

Um exemplo é o uso de óleo essencial de *Ocimum gratissimum*, amplamente estudado em laboratórios brasileiros, que apresenta eficácia comparável ao eugenol sintético, sendo rico em compostos fenólicos com ação anestésica (Boaventura, 2022; Ribeiro et al., 2016). Outro destaque é o potencial do *Cymbopogon citratus*, de fácil cultivo em diferentes regiões do Brasil, que tem mostrado resultados positivos na indução anestésica e também propriedades antioxidantes, reduzindo os efeitos do estresse oxidativo em peixes submetidos a manejo (Da Silva, 2023; Kizak et al., 2018). Tais características reforçam a importância de explorar a flora brasileira, uma das mais ricas do mundo, como fonte de insumos naturais para a aquicultura.

Apesar do potencial, ainda existem desafios a serem superados para a aplicação desses produtos na piscicultura (Krepsky; Neves; Santana, 2021; Thomas et al., 2022). A composição química dos óleos pode variar de acordo com fatores ambientais, condições de cultivo e métodos de extração, o que impacta diretamente sua eficácia. Além disso, a padronização de protocolos de uso, a determinação de doses seguras e a avaliação da toxicidade crônica ainda são pontos que demandam maior investigação (Krepsky; Neves; Santana, 2021). Também se faz necessária a regulamentação específica para o uso de extratos vegetais na aquicultura brasileira, garantindo a segurança tanto dos animais quanto dos consumidores (Brasil. Ministério da Agricultura e Pecuária, 2025).

Portanto, os avanços científicos apontam para um cenário promissor, no qual plantas medicinais e óleos essenciais podem se consolidar como anestésicos naturais, mais acessíveis e ambientalmente responsáveis. No contexto brasileiro, o aproveitamento da biodiversidade local não apenas contribui para a inovação na aquicultura, mas também valoriza os recursos vegetais do país, reforçando a sustentabilidade da cadeia produtiva de peixes. Pesquisas futuras devem integrar química, farmacologia e fisiologia animal para estabelecer padrões de qualidade e segurança, possibilitando a aplicação efetiva dessas alternativas naturais no manejo aquícola

3.4 Toxicidade de compostos naturais em peixes

Apesar de frequentemente considerados “mais seguros” por serem de origem vegetal, compostos naturais — incluindo óleos essenciais, extratos e metabólitos secundários (monoterpenos, sesquiterpenos, fenóis, alcaloides) — podem apresentar toxicidade significativa em peixes (Malheiros; Tavares-Dias, 2014; Santos et al., 2023a, 2023b). A toxicidade depende fortemente da concentração, tempo de exposição, estágio de desenvolvimento (embriões, larvas e adultos apresentam sensibilidades diferentes) (Da Silva Jr et al., 2023), espécie alvo, formulação (uso de solventes ou emulsificantes) e parâmetros ambientais (temperatura, pH, dureza e oxigênio dissolvido) (Thomas et al., 2022). Assim, o pressuposto de segurança inerente a qualquer “produto natural” é inadequado; cada composto exige avaliação toxicológica específica (Valladão, 2014).

Estudos com modelos experimentais têm mostrado efeitos agudos e subagudos de diversos compostos naturais. Em embriões e larvas de *Danio rerio* (zebrafish), por exemplo, exposição a óleos essenciais de citronela (lemongrass), tomilho, e orégano causou atraso no desenvolvimento (epibolia), deformidades morfológicas (espinha curvada, edema pericárdico), alterações comportamentais e mortalidade, com CL₅₀ bem definidas para cada óleo testado (Da Silva Jr et al., 2023). Estes resultados evidenciam que estágios precoces de desenvolvimento são particularmente sensíveis a constituintes voláteis e lipofílicos. O zebrafish tem se consolidado como modelo eficaz para triagem de toxicidade de óleos essenciais e extratos, por sua rapidez, transparência embrionária e relevância para endpoints de desenvolvimento (Polednik; Koch; Felzien, 2018; Thitinarongwate et al., 2021).

Em peixes de cultivo, testes agudos revelam limiares de toxicidade que variam entre espécies. Por exemplo, experimentos com óleo essencial de *Mentha piperita* (hortelã-pimenta) em *Oreochromis niloticus* (tilápia) indicaram que concentrações efetivas para algumas aplicações (20–35 mg·L⁻¹) podem ser seguras, mas concentrações mais altas (≥40 mg·L⁻¹) provocaram aumento de mortalidade e alterações histopatológicas nas brânquias, como fusão lamelar e proliferação epitelial (Dos Anjos; Isaac, 2020). Estudo semelhante em juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum*) avaliou óleos de *Aloysia triphylla*, *Lippia gracilis* e *Piper aduncum*, demonstrando que doses anestésicas e mal calibradas levam a danos branquiais e mortalidade, confirmando que espécies nativas de grande importância comercial demandam estudos específicos de toxicidade aguda e histológica (Santos et al., 2023b).

Os efeitos tóxicos variam conforme os compostos presentes nos óleos essenciais. Substâncias como eugenol, citral, geraniol, linalol e outros terpenos podem interagir diretamente com as membranas dos neurônios, influenciar canais iônicos e até modular sistemas de neurotransmissores, como os receptores GABA (Bianchini et al., 2017; Heldwein et al., 2012; Tao et al., 2023a). Esses mecanismos ajudam a explicar tanto o efeito anestésico em baixas concentrações quanto a toxicidade neurológica quando as doses são mais altas.

Por serem lipofílicos, muitos desses compostos se acumulam em tecidos ricos em gordura, o que pode gerar efeitos subletais, como alterações no metabolismo e aumento do estresse oxidativo (Xu et al., 2023). Em exposições prolongadas, isso pode evoluir para problemas mais sérios, como danos no fígado ou até impactos na reprodução. Já em situações de exposição aguda, os primeiros sinais costumam aparecer nas brânquias órgão que está em contato direto com a água resultando em dificuldade respiratória.

No Brasil, esses resultados ganham ainda mais importância. Isso porque o país tem uma aquicultura em expansão, com espécies de destaque como tilápia, tambaqui, pacu e pirarucu, além de uma biodiversidade riquíssima de plantas produtoras de óleos essenciais. Esse cenário torna fundamental avaliar, em nível local, a toxicidade de produtos naturais. Pesquisas realizadas em universidades e centros de estudo brasileiros já apontam tanto o potencial quanto os riscos envolvidos: óleos essenciais de plantas nativas mostraram efeitos promissores, como ação anestésica e antiparasitária, mas também revelaram níveis de toxicidade que exigem cuidado na escolha da dose e na formulação (Da Cunha et al., 2010; Silva et al., 2013). Outro ponto importante é que a composição química dos óleos pode variar bastante de acordo com o quimiotipo da planta, influenciado por fatores como clima e solo. Isso significa que dois óleos de uma mesma espécie podem ter perfis químicos diferentes — e, conseqüentemente, toxicidades distintas (Simões; Others, 2017). Por isso, a caracterização fitoquímica precisa caminhar junto com os testes toxicológicos.

Em síntese, compostos naturais carregam potencial significativo para uso em manejo aquícola (como anestésicos, antiparasitários ou aditivos, mas não são intrinsecamente isentos de risco. Estudos recentes mostram claramente que, em muitas situações, os efeitos embriotóxicos, histopatológicos e letais podem ocorrer quando os compostos são aplicados

sem a devida avaliação toxicológica. No Brasil, há espaço e necessidade para pesquisas interdisciplinares (química, toxicologia, fisiologia e regulamentação) que viabilizem o uso seguro e padronizado desses produtos na prática aquícola, maximizando benefícios e minimizando danos.

3.5 Mecanismos de ação anestésica de óleos essenciais em peixes

Os óleos essenciais (OEs), obtidos de plantas aromáticas, vêm ganhando destaque como alternativas naturais e eficazes aos anestésicos sintéticos em peixes. Seu uso tem se tornado cada vez mais frequente na aquicultura e em pesquisas experimentais, já que conseguem induzir desde uma sedação leve até uma anestesia profunda, com a vantagem de causarem menor impacto ambiental e reduzido risco de deixar resíduos químicos nos tecidos dos animais.

Diversos componentes presentes nos óleos essenciais, como eugenol, citral, linalol, mentol e geraniol, atuam de forma específica no sistema nervoso central. Um dos mecanismos mais estudados é a modulação do sistema GABAérgico. Substâncias como eugenol e linalol aumentam a permeabilidade dos receptores GABA ao íon cloreto, promovendo hiperpolarização dos neurônios e diminuindo sua excitabilidade. Esse efeito leva à sedação, à redução da atividade motora e, em concentrações adequadas, à indução de anestesia profunda em várias espécies de peixes, incluindo tilápia e zebrafish (Souza et al., 2019).

Além de atuarem no sistema GABAérgico, os óleos essenciais também podem interferir em canais iônicos, como os de sódio e potássio, modificando os potenciais de ação e diminuindo a frequência de disparos neuronais. Compostos como citral e geraniol, por exemplo, retardam a despolarização dos neurônios, provocando um bloqueio parcial na transmissão dos impulsos nervosos e promovendo relaxamento muscular. Esse efeito se manifesta como perda de coordenação motora e sedação profunda, observada em experimentos com tilápia e truta-arco-íris (Mazandarani; Hoseini, 2017).

Outro mecanismo envolve receptores sensoriais periféricos, presentes em brânquias, pele e mucosas, que modulam a percepção de estímulos e o estresse. Estudos com tilápia-do-

nilo mostraram que óleos essenciais de *Ocimum gratissimum* conseguem reduzir respostas comportamentais de fuga e a frequência respiratória, sem causar danos histológicos significativos quando usados em doses seguras. Esse efeito é particularmente relevante para práticas de manejo, transporte e manipulação de peixes na aquicultura, pois ajuda a minimizar o estresse e o risco de mortalidade (Ferreira et al., 2021a).

Alguns componentes dos óleos essenciais também atuam bloqueando parcialmente a neurotransmissão excitatória. Compostos como cineol (*Eucalyptus globulus*) e mentol (*Mentha piperita*) modulam receptores de glutamato e outros neurotransmissores excitatórios, promovendo relaxamento e sedação em peixes. Em concentrações mais baixas, eles induzem sedação leve, enquanto doses mais elevadas podem levar à anestesia profunda, permitindo que o protocolo seja ajustado conforme o objetivo do manejo (Mazandarani; Hoseini, 2017).

Além da ação direta no sistema nervoso, os óleos essenciais podem provocar efeitos sistêmicos, como leve depressão cardiovascular e diminuição da frequência respiratória. O eugenol, por exemplo, reduz o ritmo cardíaco e respiratório, potencializando o efeito anestésico geral. Esses efeitos precisam ser monitorados com atenção, pois doses excessivas podem causar toxicidade ou até mortalidade, reforçando a importância de padronizar os protocolos de aplicação (Uehara et al., 2019).

Portanto, os mecanismos de ação anestésica dos óleos essenciais envolvem interações complexas com receptores centrais e periféricos, canais iônicos e neurotransmissores excitatórios, combinados a efeitos sistêmicos. A compreensão desses processos é fundamental para otimizar o uso seguro desses compostos naturais em peixes, garantindo bem-estar animal, eficácia anestésica e sustentabilidade ambiental.

Tabela 1 - Mecanismos de ação de constituintes de óleos essenciais em peixes

Mecanismo	Componentes de OEs	Efeito observado	Espécies citadas
Modulação do sistema GABAérgico	Eugenol, Linalol	Hiperpolarização neuronal, sedação, redução da atividade motora, anestesia profunda	Tilápia, Zebrafish (Souza et al., 2019)

Mecanismo	Componentes de OEs	Efeito observado	Espécies citadas
Bloqueio/modulação de canais iônicos (Na ⁺ e K ⁺)	Citral, Geraniol	Retardo na despolarização neuronal, bloqueio parcial da transmissão nervosa, relaxamento muscular, perda de coordenação motora	Tilápia, Truta-arco-íris (Mazandarini; Hoseini, 2017)
Modulação de receptores sensoriais periféricos	Óleos de <i>Ocimum gratissimum</i>	Redução de respostas ao estresse, diminuição da frequência respiratória, manejo seguro	Tilápia-do-nilo (Ferreira et al., 2021a)
Bloqueio parcial da neurotransmissão excitatória	Cineol (<i>Eucalyptus globulus</i>), Mentol (<i>Mentha piperita</i>)	Sedação leve a profunda, relaxamento, ajuste conforme manejo	Peixes em geral (Mazandarini; Hoseini, 2017)
Efeitos sistêmicos cardiovasculares e respiratórios	Eugenol	Depressão cardiovascular leve, diminuição da frequência respiratória, potencialização do efeito anestésico	Peixes em geral (Uehara et al., 2019)

Fonte: O Autor, 2025

3.6 Perspectivas biotecnológicas e sustentáveis dos anestésicos naturais na aquicultura

A aquicultura tem se consolidado como uma das principais formas de produção de proteína animal no mundo. À medida que o setor cresce, cresce também a necessidade de aprimorar as práticas de manejo e garantir o bem-estar dos organismos cultivados. Procedimentos como biometria, transporte, reprodução e manejo alimentar, embora indispensáveis, provocam estresse e podem comprometer o desempenho zootécnico, a

imunidade e até a qualidade do produto final. Para minimizar esses efeitos, o uso de anestésicos tornou-se uma ferramenta essencial (Hoseini; Taheri Mirghaed; Yousefi, 2019; Kolygas et al., 2025a; Park; Lee; Lim, 2018).

Durante décadas, os anestésicos sintéticos como a tricaína metanossulfonato (MS-222), a benzocaína e o 2-fenoxietanol dominaram o cenário aquícola. Eles são eficazes e de ação previsível, mas também levantam preocupações: deixam resíduos nos tecidos, podem causar toxicidade ambiental, apresentam custo elevado e sofrem restrições de uso em diferentes países. Diante disso, cresce o interesse por alternativas naturais, mais seguras e ambientalmente responsáveis (Ackerman; Morgan; Iwama, 2005; Ayala-Soldado et al., 2024; Minaz, 2024).

Nesse contexto, os óleos essenciais e seus principais constituintes têm se destacado como potenciais agentes anestésicos. Derivados de plantas aromáticas, esses compostos têm mostrado resultados expressivos em várias espécies de peixes e crustáceos, promovendo sedação e anestesia de forma rápida e eficaz. O óleo de cravo, rico em eugenol, é o exemplo mais conhecido: apresenta boa eficiência anestésica, baixo custo e origem renovável. No entanto, os resultados variam conforme o tamanho dos animais, a espécie, a temperatura da água e até a forma como o óleo é aplicado — fatores que reforçam a importância de padronizar protocolos específicos (Fortes et al., 2024; Nascimento et al., 2025; Vercellini et al., 2024).

A biotecnologia tem desempenhado um papel essencial no aprimoramento dessas substâncias. Pesquisas recentes vêm explorando nanoencapsulação, microemulsões e o uso de ciclodextrinas para aumentar a solubilidade dos óleos essenciais e controlar a liberação dos compostos ativos. Essas inovações tornam o uso mais eficiente, reduzem o desperdício e garantem uma resposta anestésica mais estável. Há também um movimento crescente para modificar estruturalmente alguns compostos naturais, criando versões “melhoradas”, com maior seletividade e menor toxicidade (Kheawfu et al., 2025; Slavova et al., 2020; Xu et al., 2021; Zeng et al., 2024).

Do ponto de vista sustentável, os anestésicos naturais oferecem vantagens evidentes. Por serem de origem vegetal, podem ser obtidos a partir de cultivos renováveis, resíduos

agrícolas ou subprodutos da agroindústria, reduzindo a pressão sobre recursos naturais. O uso desses compostos se alinha a princípios de bioeconomia e economia circular, reforçando a imagem de uma aquicultura mais verde e responsável. Ainda assim, desafios persistem: a composição química dos óleos pode variar conforme a origem botânica, o clima e a época de colheita, o que dificulta a padronização (Hoseini; Taheri Mirghaed; Yousefi, 2019; Kolygas et al., 2025b).

Apesar dos avanços, a adoção em larga escala desses anestésicos ainda exige comprovação robusta de segurança. É fundamental garantir que não deixem resíduos nos tecidos destinados ao consumo humano e que não apresentem efeitos crônicos sobre o organismo dos peixes. Além disso, a regulamentação precisa acompanhar a ciência, estabelecendo parâmetros claros para a utilização segura dessas substâncias no setor produtivo (Ayala-Soldado et al., 2024; Fortes et al., 2024; Minaz, 2024).

Em perspectiva, os anestésicos naturais representam uma alternativa promissora e necessária à dependência dos compostos sintéticos. A integração entre biotecnologia, sustentabilidade e regulamentação é o caminho para transformar esse potencial em prática consolidada. À medida que novas formulações são desenvolvidas e a produção vegetal se torna mais sustentável, é possível vislumbrar uma aquicultura que concilie eficiência, bem-estar animal e respeito ao meio ambiente. O futuro dos anestésicos naturais, portanto, não depende apenas da química, mas também de um novo modo de pensar a produção aquícola: mais inteligente, consciente e integrada à natureza.

3.7 Alinhamento do estudo com os Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS)

O presente estudo está diretamente alinhado ao Objetivo de Desenvolvimento Sustentável 12 (ODS 12) – Consumo e Produção Responsáveis, proposto pela Organização das Nações Unidas, que visa promover padrões sustentáveis de produção, reduzir impactos ambientais e incentivar o uso eficiente dos recursos naturais (Organização das Nações Unidas, 2015). No contexto da aquicultura, esse objetivo está associado à adoção de tecnologias que minimizem o uso de insumos químicos potencialmente perigosos, reduzam a geração de resíduos e promovam práticas ambientalmente responsáveis (United Nations Environment Programme, 2019).

Tradicionalmente, a anestesia de peixes em sistemas aquícolas tem sido realizada com o uso de compostos sintéticos, como a tricaína metanossulfonato (MS-222) e a benzocaína, os quais, embora eficazes, apresentam limitações relacionadas à toxicidade, à possibilidade de acúmulo de resíduos nos tecidos e ao impacto ambiental (Ackerman; Morgan; Iwama, 2005). Essas restrições têm impulsionado a busca por alternativas mais seguras e sustentáveis para o manejo de organismos aquáticos.

Nesse cenário, os óleos essenciais de origem vegetal têm se destacado como alternativas naturais promissoras, uma vez que são compostos majoritariamente biodegradáveis, provenientes de fontes renováveis e, em geral, apresentam menor persistência ambiental quando comparados aos anestésicos sintéticos (Aydın; Barbas, 2020; Hoseini; Taheri Mirghaed; Yousefi, 2019). Estudos recentes demonstram que monoterpenos e outros constituintes voláteis presentes nesses óleos são capazes de induzir sedação e anestesia eficazes em diferentes espécies de peixes, com menor risco toxicológico quando utilizados em concentrações adequadas (Félix et al., 2023).

Além do aspecto ambiental, o uso de óleos essenciais extraídos de espécies vegetais nativas contribui para a valorização da biodiversidade local e para o fortalecimento de estratégias alinhadas à bioeconomia. O aproveitamento racional de plantas aromáticas brasileiras como fonte de insumos para a aquicultura sustentável está em consonância com os princípios do consumo e da produção responsáveis, ao promover inovação tecnológica baseada em recursos naturais renováveis. No caso específico de *Dizygostemon riparius*, estudos prévios já evidenciaram seu potencial biotecnológico, reforçando a relevância de sua investigação sob a perspectiva da sustentabilidade (Galvão et al., 2023).

Dessa forma, ao investigar a eficácia anestésica e os limites de segurança do óleo essencial de *D. riparius*, o presente trabalho contribui para o desenvolvimento de práticas de manejo mais sustentáveis na piscicultura, reduzindo a dependência de anestésicos sintéticos e promovendo o uso responsável dos recursos naturais. Assim, a pesquisa se insere no contexto da ODS 12 ao integrar eficiência produtiva, inovação científica e responsabilidade ambiental.

4. Metodologia

4.1 Peixes e condições de cultivo

O experimento foi conduzido no setor de Piscicultura do Centro de Ciências de Chapadinha (CCCh), da Universidade Federal do Maranhão (UFMA), localizado nas coordenadas 03° 44 '17"S e 43° 20' 29"W, a uma altitude de 107 m. Foram utilizados 200 alevinos e juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum*) distribuídos e, três classes de tamanho: Grupo A ($3,30 \pm 0,53$ g; $3,1 \pm 0,71$ cm); Grupo B ($6,61 \pm 1,27$ g; $7,08 \pm 0,62$ cm) e Grupo C ($15,43 \pm 1,82$ g; $10,8 \pm 1,53$ cm). Os exemplares foram obtidos de uma piscicultura comercial no município de Santa Rita (MA) e, ao chegarem ao laboratório, foram mantidos por 8 dias em tanque de concreto (6m³), localizado na área externa do prédio para aclimação pré-experimental. Durante este período, receberam ração comercial com 36% de proteína bruta, fornecida duas vezes ao dia (07h30 e 17h00) até a saciedade aparente. Vinte e quatro horas antes do início dos experimentos e durante a exposição ao óleo essencial, os animais foram submetidos a jejum alimentar. O protocolo experimental foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFMA sob o registro nº 23115.010523/2024-58.

4.2 Parâmetros físico-químicos da água

Os parâmetros físico-químicos da água foram monitorados e mantidos dentro de níveis adequados ao longo de todo o período experimental, registrando-se os seguintes valores: temperatura de $27,71 \pm 2,44$ °C, pH de $6,14 \pm 0,69$, amônia total de $0,04 \pm 0,01$ mg L⁻¹ e dureza: $5,39 \pm 0,52$ mg L⁻¹ de CaCO₃ equivalente. As medições de oxigênio dissolvido e temperatura foram realizadas com um medidor multiparâmetro YSI, enquanto o pH foi aferido com um medidor de pH digital DMPH-2, garantindo o controle sistemático da qualidade da água durante os ensaios.

4.3 Extração do óleo essencial, análise e identificação dos constituintes

Exemplares de *Dizygostemon riparius* foram coletados em ambiente ripário no município de São Benedito do Rio Preto/MA (coordenadas: 3°19'27.9" S / 43°31'03.5" W). Após a coleta, 2,4 kg de folhas foram submetidas à secagem em temperatura ambiente por cinco dias, trituradas em moinho mecânico e processadas por hidrodestilação durante 2 horas em aparelho do Clevenger, conforme metodologia descrita em Figueiredo et al., (2019) Após o processo de extração, o óleo foi armazenado em frasco de vidro âmbar e mantido sob

condições adequadas até sua utilização. O material botânico foi identificado e uma exsicata foi depositada no herbário Museu Paraense Emílio Goeldi (MPEG), em Belém-PA.

A análise química do óleo essencial foi realizada por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM), técnica amplamente utilizada para a identificação de compostos voláteis em óleos essenciais (Marriott; Shellie; Cornwell, 2001).

As análises físico-químicas do óleo essencial seguiram os padrões da Farmacopeia Brasileira. O óleo essencial foi analisado em um cromatógrafo a gás CG-2010) acoplado a um espectrômetro de massas (CG-EM QP2010 Plus), ambos da marca Shimadzu, utilizando uma coluna capilar DB-5MS (30 m $\times$ 0,25 mm $\times$ 0,25 μ m). O gás de arraste utilizado foi o hélio, com velocidade linear de 30 cm/s e fluxo da coluna de 1,0 mL.min⁻¹, com razão de split de 1:30. A programação do forno iniciou-se a 35 °C por 6 minutos, com rampa de aquecimento de 10 °C.min⁻¹ até atingir 240 °C, temperatura mantida por 10 minutos. A temperatura do injetor foi de 250 °C e da fonte de íons de 200 °C. O tempo total da corrida cromatográfica foi de 36,50 minutos. A amostra foi preparada com 1 μ L do óleo essencial solubilizado em 500 μ L de hexano grau HPLC. A identificação dos compostos foi realizada por normalização das áreas dos picos, utilizando a biblioteca do equipamento NIST08 (National Institute of Standards and Technology).

A cromatografia gasosa separa os diferentes constituintes do óleo com base em suas propriedades físico-químicas, como volatilidade e polaridade, enquanto a espectrometria de massas fornece informações sobre a estrutura molecular dos compostos, permitindo sua identificação (Hubschmann, 2009) As bibliotecas espectrais ADAMS, NIST, (Adams, 2001; Of Standards; Technology, 2017) e FFNSC 2 foram utilizadas para a comparação e identificação dos compostos presentes no óleo essencial de *Dizygostemon riparius*.

4.4 Teste de toxicidade aguda

Para a realização dos ensaios, foram utilizados lotes independentes de peixes para os testes de toxicidade aguda e de atividade anestésica, a fim de evitar possíveis interferências fisiológicas e comportamentais decorrentes de exposições prévias ao óleo essencial, garantindo a independência dos resultados obtidos em cada experimento.

O tempo de exposição de 6 h no ensaio de toxicidade aguda foi adotado com base em protocolos utilizados para avaliação de toxicidade de curta duração em organismos aquáticos, especialmente em estudos com óleos essenciais, que apresentam rápida absorção e ação biológica. Esse período permite a detecção de efeitos letais e subletais iniciais, sendo adequado para triagem toxicológica sem prolongar desnecessariamente o estresse dos animais.

Para o ensaio de atividade anestésica, foi utilizado um período máximo de 30 minutos, conforme recomendado em estudos com anestésicos em peixes, nos quais a indução e recuperação devem ocorrer em intervalos curtos. Esse tempo é suficiente para avaliar as diferentes fases da anestesia (sedação, perda de equilíbrio e anestesia profunda), além de permitir a observação da recuperação dos animais após a exposição.

Foram realizados três ensaios para avaliar a toxicidade do óleo essencial de *Dizygostemon riparius* (OEDr) em peixes de diferentes faixas biométricas. No Grupo 1, composto por alevinos ($3,30 \pm 0,52$ g; $5,39 \pm 0,41$ cm), foram testadas as concentrações de 25, 30, 40, 45, 50 e $70 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ de OEDr, além do grupo controle tratado com etanol ($3,364 \mu\text{L}$; diluição 1:10) sem óleo essencial, com quatro repetições por concentração ($n = 4$). O Grupo 2, formado por juvenis ($6,61 \pm 1,27$ g; $7,08 \pm 0,62$ cm), foi exposto às concentrações de 150, 170 e $190 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, com duas repetições por concentração ($n = 2$ peixes). Por fim, o Grupo 3, composto também por juvenis ($15,43 \pm 1,82$ g; $10,8 \pm 1,53$ cm), foi submetido às concentrações de 210, 230 e $250 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, também com duas repetições por concentração ($n = 2$ peixes) assim como está na figura 2

Como critério de mortalidade, os peixes foram considerados mortos apenas na ausência total de movimentos operculares ou caudais e na falta de resposta a estímulos externos. Ao final de cada ensaio, registrou-se o número de sobreviventes e de indivíduos que não resistiram às concentrações testadas (Souza et al., 2017)

Figura 2. Esquema metodológico do ensaio de toxicidade aguda com OEDr em juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum*). O diagrama detalha os três grupos biométricos, as concentrações testadas e os parâmetros monitorados durante a exposição de 6 horas.



Fonte: o autor, 2025

4.5 Ensaio de atividade sedativa e anestésica do óleo essencial de *Dizygostemon riparius*

Para complementar a investigação dos efeitos fisiológicos do OEDr, conduziu-se um experimento específico para avaliar seu potencial anestésico nos animais, utilizando concentrações de 35, 55, 100, 120, 130 mg·L⁻¹ diluídas em etanol na proporção 1:10. O grupo controle recebeu etanol puro (527 µL) isento do óleo, seguindo um delineamento inteiramente casualizado com preparação das soluções no momento dos ensaios a partir de solução estoque refrigerada e protegida da luz,

O experimento foi conduzido em 20 aquários de 1 L, todos com aeração constante. Cada concentração do OEDr foi testada em quatro repetições (n = 4), utilizando um total de 200 animais. Com o objetivo de garantir a adaptação dos peixes e evitar variáveis de estresse, os indivíduos foram transferidos 24 horas antes do início dos testes para um tanque de polietileno de 150 L, onde permaneceram em condições controladas até a exposição ao óleo essencial a biometria média dos peixes utilizados eram 6,61 ± 1,27 g; 7,08 ± 0,62 cm.

Cada animal foi individualmente coletado de forma aleatória e submetido ao banho anestésico com OEDr em sistema estático. O tempo máximo de exposição ao óleo foi de

trinta minutos, utilizando cada indivíduo apenas uma vez para evitar interferências nos resultados.

Após a exposição, os peixes foram transferidos para aquários contendo água limpa e aerada (1 L) para avaliação do tempo de recuperação. Considerou-se a recuperação completa quando os animais apresentaram natação ativa e coordenada, com resposta aos estímulos táteis. O período máximo de observação da recuperação também foi limitado a trinta minutos. Os tempos de indução aos diferentes estágios anestésicos foram registrados com cronômetros digitais, seguindo os parâmetros estabelecidos para sedação (perda de reatividade a estímulos visuais), equilíbrio (perda de natação ereta) e anestesia cirúrgica (perda de reflexo opercular).

Após a recuperação total dos efeitos anestésicos, os exemplares foram submetidos à biometria individual (peso e comprimento total) e agrupados de acordo com as respectivas concentrações de OEDr testadas. Para monitoramento pós-experimental, os animais foram mantidos por 24 horas em caixas de polietileno de 150 L, sob observação contínua de possíveis alterações comportamentais e registro de eventual mortalidade. Visando padronizar as condições metabólicas, os peixes permaneceram em jejum por 24 horas antes do início dos experimentos e durante toda a sua duração (Souza et al., 2017), assim como esta decrito na figura 3.

Figura 3. Fluxograma experimental do potencial anestésico do OEDr em juvenis de tambaqui. O esquema ilustra as etapas de aclimatação (jejum), as concentrações (35 a $130 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$), o processo de indução e recuperação anestésica, e o monitoramento pós-teste.



Fonte: o Autor, 2025

Os estágios de indução e recuperação da anestesia foram avaliados conforme o estudo de (Small, 2003), de acordo com a Tabela 2.

Tabela 2. Estágios de sedação, anestesia e recuperação de acordo com Small, 2003

Estágio	Descrição	Comportamento Característico
E1 – Sedação	Início dos efeitos sedativos	Pouca reação a estímulos externos, perda parcial do equilíbrio, natação errática.
E2 – Anestesia	Anestesia profunda	Perda total do equilíbrio, ausência de locomoção.
E3 – Recuperação	Retorno à normalidade motora	Recuperação da posição de nado e da capacidade de nadar.

4.6 Análise de dados

A análise estatística dos dados foi realizada utilizando os softwares Origin® (OriginLab Corporation, EUA) e Microsoft Excel®. A determinação da concentração letal média (CL_{50}) foi conduzida no software Origin®, no qual os dados de mortalidade foram ajustados por meio de análise de regressão não linear, permitindo a estimativa da CL_{50} e de seus respectivos intervalos de confiança. O mesmo software foi empregado para a construção dos gráficos referentes à avaliação anestésica, incluindo a relação entre concentração do óleo essencial e os tempos de indução, sedação e anestesia.

Os dados obtidos nos testes de sedação, anestesia e recuperação foram inicialmente organizados em planilhas do Microsoft Excel®. A partir dessas planilhas, foi realizada a análise de variância (ANOVA) para verificar diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos. Quando aplicável, adotou-se nível de significância de $p < 0,05$. Os resultados foram expressos como média $\pm$ desvio-padrão.

5. Resultados e Discussão

5.1 Caracterização Físico-química do óleo essencial de *Dizygostemon riparius*

O óleo essencial de *Dizygostemon riparius* apresentou propriedades físico-químicas compatíveis com aquelas descritas para óleos essenciais. A densidade ($0,9377 \text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$) e o índice de refração (1,464) encontram-se dentro das faixas usualmente reportadas para esse

tipo de produto natural. A solubilidade em etanol 70% na proporção de 1:5 indica solubilidade parcial, característica comum de óleos essenciais, devido à presença de compostos de diferentes polaridades (Tabela 3).

Entretanto, esses parâmetros físico-químicos, quando avaliados isoladamente, não permitem inferir de forma conclusiva a composição química do óleo essencial, sendo necessários métodos analíticos mais específicos, como a cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM), para a identificação e quantificação dos constituintes.

Tabela 3. Propriedades físico-químicos do Óleo essencial de *Dizygostemon riparius*.

Parâmetro	Valor
Densidade (g mL ⁻¹)	0,9377
Índice de refração (nD 25°)	1,464
Solubilidade em etanol a 70% (v/v)	01:05
Cor	Amarelo
Aparência	Límpido
Odor	Característico e forte
Rendimento (%)	1,54

Fonte: O autor, 2025

Macroscopicamente, o óleo apresenta-se como um líquido amarelo, límpido, exibindo aroma intenso e característico condizente com a alta concentração de endo-fenchol e acetato de endo-fenchil. O rendimento de extração de 1,54% pode ser considerado satisfatório quando comparado com outras espécies aromáticas, posicionando-se em uma faixa moderada para produção de óleo essencial.

5.2 Constituintes químicos

A análise cromatográfica do óleo essencial (Tabela 4) revelou um perfil químico distintivo, caracterizado pelo predomínio de monoterpenos oxigenados com destaque para derivados do esqueleto fenchânico. A composição foi dominada por dois

constituintes majoritários: o acetato de endo-fenchila (42,66%) e o endo-fenchol (34,88%), que em conjunto representaram mais de 77% da composição total.

Tabela 4. Constituintes identificados no OEDr por CG-EM

Nº	Constituintes químicos	IRa	IRb	OE (%)
1	(E)-Hex-2-enal	841	840	0,41
2	(Z)-Hex-3-enol	843	842	0,36
3	Santolina trieno	902	901	1,55
4	α -Tujeno	920	919	0,35
5	α -Pino	927	926	0,67
6	α -Fencheno	938	939	0,48
7	β -Pino	968	969	0,31
8	p-Cimeno	1016	1017	0,8
9	Limoneno	1022	1021	1,09
10	(Z)- β -Ocimeno	1030	1029	0,44
11	γ -Terpineno	1051	1050	0,34
12	Linalol	1091	1093	0,37
13	endo-Fenchol	1108	1110	34,88
14	α -Terpineol	1166	1168	0,48
15	neoiso-Isopulegol	1173	1175	0,68
16	Acetato de endo-Fenchila	1176	1178	42,66
17	Nerol	1181	1183	0,48
18	p-Cimen-8-ol	1188	1186	0,38
19	Carvacrol	1292	1290	0,38
20	Acetato de neoiso-Isopulegila	1307	1305	0,48
21	Metil-eugenol	1349	1347	0,32
22	Acetato de neoiso-Dihidrocarveol	1353	1351	0,98
23	Acetato de trans-Mirtanol	1394	1392	0,14
24	(E)-Cariofileno	1417	1419	3,22
25	trans-Nerone	1442	1444	1,38
26	(E)-Nerolidol	1443	1445	0,31
27	α -Humuleno	1450	1452	0,88
28	Epóxido de italiceno	1549	1551	0,48
29	Viridiflorol	1565	1566	0,36
30	Epóxido de humuleno II	1572	1573	0,41
31	Espatuleno	1574	1575	0,88

Nº	Constituintes químicos	IRa	IRb	OE (%)
32	Óxido de cariofileno	1583	1584	2,58

IR^a = índices de retenção calculados experimentalmente; IR^b = índices de retenção da literatura em coluna apolar.

Fonte: O Autor, 2025

A análise cromatográfica do óleo essencial de *Dizygostemon riparius* permitiu identificar constituintes em teores intermediários, dentre os quais destacam-se o (E)-cariofileno (3,22%), o óxido de cariofileno (2,58%) (figura 4). A maioria dos demais compostos ocorreu em concentrações inferiores a 1%, incluindo α e β -pineno, γ -terpinoleno, linalol, carvacrol, espatulenol e viridiflorol.

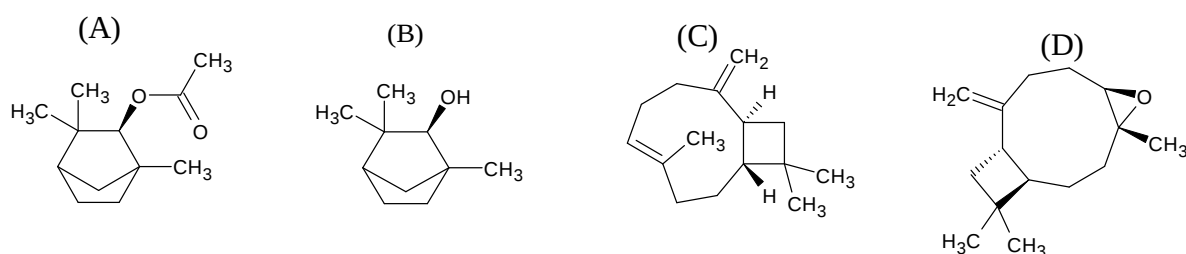


Figura 4. Estruturas químicas dos principais constituintes identificados: (A) acetato de endofenchila, (B) endo-fenhol, (C) β -cariofileno e (D) óxido de cariofileno.

Os principais constituintes identificados acetato de endofenchila, endo-fenhol, β -cariofileno e óxido de cariofileno têm sido descritos na literatura como compostos com diferentes atividades biológicas, incluindo interações com sistemas fisiológicos de organismos aquáticos e terrestres. Entre eles, o β -cariofileno é um sesquiterpeno amplamente relatado por apresentar atividades farmacológicas, como efeitos antinociceptivos e anti-inflamatórios, além de possível modulação de vias neurais (Gertsch et al., 2008; Sharma et al., 2016).

No caso dos monoterpenos oxigenados, como o endo-fenhol e o acetato de endofenchila, estudos indicam a ocorrência de atividades biológicas diversas, incluindo efeitos observados em ensaios toxicológicos e larvicida, sugerindo potencial interação com processos fisiológicos e metabólicos (Brandão et al., 2020).

Considerando o conjunto desses compostos, é possível que as respostas comportamentais observadas nos organismos expostos estejam relacionadas à ação combinada desses constituintes. No entanto, com base nos dados obtidos neste estudo, não é possível estabelecer relações causais diretas ou mecanismos específicos de ação, sendo necessários estudos adicionais para elucidar o papel individual e sinérgico desses metabólitos.

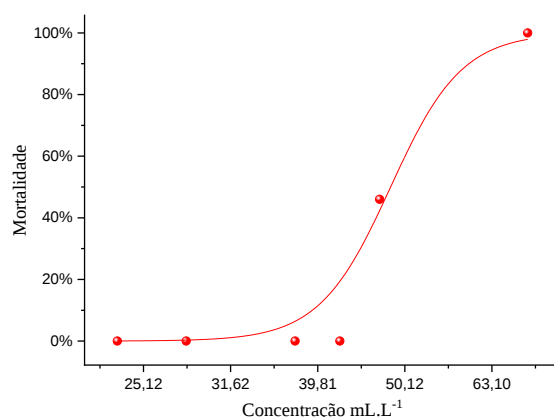
Este perfil químico evidencia a predominância de monoterpenos oxigenados, que conferem ao óleo essencial propriedades organolépticas e estão potencialmente associados a atividades biológicas relevantes, incluindo efeitos antimicrobianos, anti-inflamatórios e antioxidantes previamente documentados para derivados do esqueleto fenchânico e sesquiterpenos oxigenados (De Cássia da Silveira e Sá; Andrade; De Sousa, 2013; Masyita et al., 2022). A presença de compostos minoritários, como monoterpenos hidrocarbonados e fenóis, embora quantitativamente menos expressivos, pode atuar sinergicamente, ampliando a complexidade química e funcional do óleo e potencialmente modulando sua bioatividade global (Dhifi et al., 2016).

5.3 Avaliação da toxicidade e propriedades anestésica do óleo essencial da

Dizygostemon riparius

A figura 5, apresenta um gráfico dos resultados do teste de toxicidade aguda realizado com alevinos de tambaqui na classe de tamanho de $3,30 \pm 0,53$ g e $4,1 \pm 0,45$ cm. Os dados demonstram uma relação dose-dependente entre a concentração do OEDr e a mortalidade dos organismos, o que permitiu calcular a CL_{50} (concentração letal média para 50% da população) em $48,89 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$.

Figura 5- Resposta dos peixes do grupo 1 à exposição ao OEDr em diferentes concentrações durante 6 horas (n=4)



Fonte: O Autor (2025)

Nas concentrações mais baixas testadas (23,44 a 42,22 mg·L⁻¹), não foram observadas alterações comportamentais ou fisiológicas evidentes, indicando ausência de efeitos agudos detectáveis nas condições experimentais. A partir de concentrações próximas a 46,89 mg·L⁻¹, verificou-se o início de respostas comportamentais e fisiológicas adversas em alguns indivíduos, sugerindo a existência de um limiar de sensibilidade biológica dentro da faixa avaliada.

Essa sensibilidade diferenciada entre classes de peso corrobora observações já descritas na literatura, segundo as quais peixes de menor biomassa tendem a apresentar maior reatividade a compostos bioativos, em razão de uma maior superfície corporal relativa, metabolismo mais acelerado e imaturidade dos sistemas enzimáticos de detoxificação (Ferreira; Eissa, 2021).

Pequenas variações observadas entre os recipientes de exposição indicam heterogeneidade individual na resposta fisiológica ao óleo essencial, possivelmente associada a diferenças metabólicas, genéticas ou microvariações ambientais. Essa dispersão ressalta a importância de se considerar a variabilidade biológica natural na interpretação de testes toxicológicos, mesmo sob condições experimentais controladas (Bontje; Kooi; Van Hattum, 2011; Metin; Ozdikyar; Telci, 2025).

A partir da concentração de $46,89 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, registrou-se um aumento abrupto na mortalidade (46%), evidenciando a existência de um limiar tóxico próximo a este valor. A distribuição heterogênea das mortalidades com 90 % indivíduos em um aquário e 50 % nos demais sugere variabilidade interindividual na resposta ao óleo essencial, possivelmente associada a fatores como heterogeneidade populacional, diferenças fisiológicas individuais ou micro variações nas condições experimentais de exposição. Esta dispersão nos resultados ressalta a importância de considerar a variabilidade biológica em estudos toxicológicos, mesmo sob condições controladas.

A concentração de $69,36 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ resultou em 100% de mortalidade após 6 horas de exposição. Com base na curva dose-resposta obtida, estima-se que a CL_{50} próxima a $48,89 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, (IC 95%: $<40,2 - 53,1>$), valor compatível com o limiar de toxicidade aguda observado experimentalmente. A análise de regressão demonstra uma forte correlação positiva ($R^2 = 0,83$) entre concentração e mortalidade.

Esses resultados indicam que o óleo essencial apresenta efeitos toxicológicos dependentes da concentração, mostrando-se relativamente seguro em níveis inferiores ao limiar avaliado. Para aplicações práticas na aquicultura, concentrações inferiores a $48,89 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ podem ser consideradas para procedimentos de sedação e anestesia, enquanto concentrações superiores estão associadas a um aumento do risco de mortalidade.

Recomenda-se, desta forma, a padronização de protocolos experimentais e o monitoramento rigoroso de efeitos individuais, particularmente em concentrações próximas ao limiar de toxicidade, para reduzir a variabilidade interindividual e garantir segurança no uso do óleo essencial.

Após o ensaio com os alevinos (grupo 1), conduziram-se dois testes adicionais de toxicidades aguda com indivíduos com maiores classes biométricas para avaliação comparativa (grupo 2 e 3) afim de notar sua resistência e efeitos. Foram testadas concentrações de 50, 70, 100, 120, 150, 170, 190, 210, 230 e $250 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, distribuídas da seguinte forma:

Grupo 2 ($6,61 \pm 1,27 \text{ g}$; $7,08 \pm 0,62 \text{ cm}$): concentrações de 50 a $120 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$

Grupo 3 ($15,43 \pm 1,82$ g; $10,8 \pm 1,53$ cm): concentrações de 150 a 250 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$

Durante o período de exposição de 6 horas ao óleo essencial de *Dizygostemon riparius*, não foi registrada mortalidade em nenhuma das concentrações testadas, conforme demonstrado nas Tabelas 5 e 6.

Tabela 5. Efeitos comportamentais de tambaqui do grupo 2 expostos ao OEDr em diferentes concentrações durante 6 horas. Os valores representam a média $\pm$ desvio padrão de duas repetições (n=2).

Concentração ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	Mortalidade (%)	Efeito Observado	Tempo médio até o efeito (s)
50	0	Nenhum efeito	—
70	0	Nenhum efeito	—
100	0	sedação	540
120	0	Anestesia	720

Fonte: O Autor, 2025

Tabela 6. Efeitos comportamentais de tambaqui grupo 3 expostos ao OEDr em diferentes concentrações durante 6 horas. Os valores representam a média $\pm$ desvio padrão de quatro repetições (n=2).

Concentração ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	Mortalidade (%)	Efeito Observado	Tempo médio até anestesia (s)
150	0	Sedação	600
170	0	Sedação	540
190	0	Sedação	360
210	0	Anestesia	300
230	0	Anestesia	240
250	0	Anestesia	90

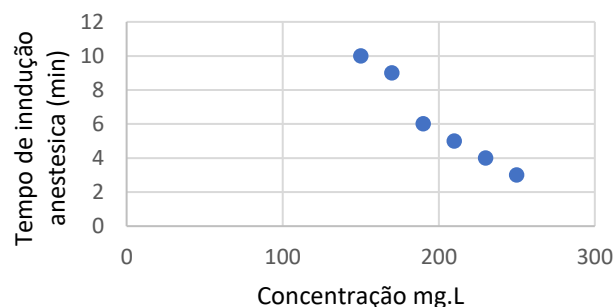
Fonte: O Autor, 2025

Ao longo das seis horas de exposição ao óleo essencial de *Dizygostemon riparius*, não foi registrada mortalidade, mesmo nas concentrações mais elevadas testadas. Esse resultado indica que, nas condições avaliadas, o óleo não apresentou toxicidade letal aguda, conforme demonstrado nas 6.

Nos peixes do grupo 2 (massa média de 6,61 g e comprimento médio de 7,08 cm), expostos a concentrações entre 50 e 120 mg·L⁻¹, não foram observadas alterações comportamentais nas menores concentrações (50 e 70 mg·L⁻¹). A partir de 100 mg·L⁻¹, os animais passaram a apresentar sedação, caracterizada pela redução da atividade natatória e diminuição da resposta a estímulos externos, sem perda total dos reflexos. O tempo médio de indução da sedação foi de aproximadamente 9 minutos. Na concentração de 120 mg·L⁻¹, a sedação apresentou-se mais pronunciada, com maior redução da atividade locomotora, mantendo-se estável ao longo do ensaio. A duração do estado sedativo correspondeu a todo o período de exposição, não sendo observada progressão para anestesia, uma vez que não houve perda completa dos reflexos.

Nos peixes do grupo 3 (massa média de 15,43 g e comprimento médio de 10,8 cm), expostos a concentrações mais elevadas (150 a 250 mg·L⁻¹), observou-se a progressão da sedação para anestesia completa, com perda dos reflexos e ausência de resposta a estímulos externos. O efeito anestésico ocorreu de forma mais rápida à medida que a dose-dependente aumentou, sendo observado em cerca de 10 minutos em 150 mg·L⁻¹, 9 minutos em 170 mg·L⁻¹ e 6 minutos em 190 mg·L⁻¹. Nas concentrações mais altas (210, 230 e 250 mg·L⁻¹), os tempos médios de indução anestésica reduziram-se para 5, 4 e 3 minutos, respectivamente evidenciando um efeito dose-dependente. Em todas essas condições, os peixes permaneceram em estado anestésico até o final do período de exposição, sem ocorrência de mortalidade, conforme ilustrado na Figura 6.

Figura 6. Tempo médio (s) até sedação e anestesia no grupo 3 expostos ao OEDr



Fonte: O Autor, 2025

Os tempos médios de sedação, anestesia e recuperação dos juvenis de *Colossoma macropomum* expostos a diferentes concentrações do óleo essencial de *Dizygostemon riparius* estão apresentados na Tabela 7. Observou-se que o aumento da concentração do óleo promoveu redução significativa nos tempos de indução, tanto para a sedação quanto para a anestesia, indicando um efeito dose-dependente. A concentração de 120 mg·L⁻¹ foi a menor capaz de induzir anestesia completa nos peixes, enquanto em 130 mg·L⁻¹ a indução ocorreu mais rapidamente, embora com tempo total de anestesia reduzido. Por outro lado, o período de recuperação aumentou progressivamente nas concentrações mais elevadas, indicando que os animais permaneceram por mais tempo sob efeito do composto.

Tabela 7. Tempos (s) médios de indução de sedação, anestesia e recuperação em tambaqui expostos ao OEDr

Concentração (mg.L ⁻¹)	Sedação (s)	Anestesia (s)	Recuperação (s)
35	-	-	-
55	-	-	-
75	415,4 ± 20,7 ^b	-	72,6 ± 8,1 ^b
100	273,8 ± 12,3 ^c	-	83,4 ± 3,8 ^b
120	232,8 ± 5,2 ^c	451,6 ± 20,7 ^b	167,4 ± 7,4 ^a
130	149,6 ± 20,1 ^d	258,4 ± 36,6 ^c	207,8 ± 25,7 ^a

Letras diferentes na mesma coluna indicam diferenças estatísticas significativas entre as médias ($p < 0,05$). ; ANOVA, $p < 0,05$ teste de Tukey.

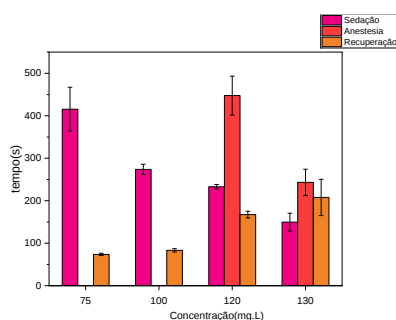
Fonte: O Autor, (2025)

Em concentrações mais baixas (75 e 100 mg·L⁻¹), o óleo essencial induziu exclusivamente sedação, caracterizada por redução da atividade motora e diminuição da resposta a estímulos externos, sem perda completa dos reflexos. Nessas concentrações, os tempos médios de indução da sedação foram de 415,4 ± 20,7 s e 273,8 ± 12,3 s, respectivamente. Esses resultados indicam que doses mais baixas são adequadas para promover sedação leve, permitindo manipulações rápidas e de curta duração, sem atingir o

estado de anestesia propriamente dita. A redução significativa do tempo de indução de sedação com o aumento da concentração confirmando um efeito dose-dependente do óleo essencial, evidenciando que concentrações mais elevadas aceleram a indução do efeito sedativo.

Em concentrações mais elevadas (120 e 130 mg·L⁻¹), observou-se a transição da sedação para anestesia completa, caracterizada pela perda total de reflexos e ausência de resposta a estímulos externos. Nessas condições, os tempos médios de indução anestésica foram de 451,6 ± 20,7 s e 258,4 ± 36,6 s, respectivamente embora a concentração de 130 mg·L⁻¹ tenha promovido uma indução anestésica mais rápida, o tempo total de anestesia foi inferior ao observado em 120 mg·L⁻¹, indicando redução da duração do estado anestésico nas concentrações mais elevadas. Esse comportamento pode estar associado a maior absorção inicial do composto, seguida por metabolização acelerada ou por mecanismos fisiológicos compensatórios que antecipam a recuperação (Minaz, 2024; Minaz; Félix, 2026). O tempo de recuperação apresentou aumento progressivamente à concentração utilizada, variando de 72,6 ± 8,1 s em 75 mg·L⁻¹ até 207,8 ± 25,8 s em 130 mg·L⁻¹. Esses dados indicam que, embora Concentrações mais elevadas estão associadas a uma transição mais rápida da sedação para a anestesia, bem como a um maior tempo de retorno às condições basais., conforme ilustrado na Figura 7. Dessa forma, a escolha da concentração adequada deve considerar o nível de profundidade desejado (sedação ou anestesia), o tempo de indução e um período de recuperação compatível com a segurança dos animais.

Figura 7. Tempos médios (± desvio-padrão) de sedação, anestesia e recuperação de peixes expostos ao OEDr.



Fonte: o autor 2025

De modo geral, os resultados indicam que as concentrações avaliadas, como $120 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, foram eficazes para induzir anestesia profunda, apresentando tempos de indução reduzidos e recuperação moderada, enquanto concentrações mais baixas mostraram-se adequadas para a indução de sedação leve em procedimentos rápidos. A relação dose-dependente observada neste estudo contribui para a compreensão dos efeitos do óleo essencial sobre o comportamento dos peixes, oferecendo subsídios experimentais para futuras investigações, sem generalizar para condições não avaliadas.

6. Relação com o perfil químico dos constituintes voláteis

Os resultados mostraram que o óleo essencial de *Dizygostemon riparius* apresenta atividade anestésica dependente da concentração e do tamanho corporal dos peixes, evidenciando uma relação estreita entre o efeito desejado e a ocorrência de efeitos tóxicos, conforme descrito para outros óleos essenciais (Bunsen et al., 2022; Souza et al., 2019).

Nos alevinos (grupo 1), a toxicidade se deu de forma rápida e acentuada. Em concentrações em torno de $50 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, quase metade dos animais morreram, e em $74 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ a mortalidade chegou a 100% em apenas 30 minutos. Esse comportamento é coerente com a biologia desses animais, uma vez que a maior área branquial proporcional em relação ao tamanho corporal favorece a captação dos compostos, especialmente daqueles de natureza lipofílica, como os constituintes do óleo essencial. No entanto, a absorção e a resposta aos compostos não dependem exclusivamente da área branquial, sendo também influenciadas por fatores toxicocinéticos adicionais, como a difusão lipofílica através das membranas branquiais, a taxa de ventilação branquial e a eficiência dos sistemas de biotransformação e detoxificação hepática, que, em conjunto, modulam a velocidade de absorção, a intensidade do efeito e o tempo de recuperação. Além disso, o metabolismo acelerado em organismos pequenos limita a capacidade de neutralizar ou eliminar as substâncias, fazendo com que elas se acumulem rápido demais. O resultado é que mesmo doses que parecem baixas se tornam perigosas para esses animais (Glazier; Paul, 2017; Matthee et al., 2023; Park, 2019).

Em contraste, nos peixes do grupo 3 não foi observada mortalidade, mesmo em concentrações de até $250 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ durante o período de exposição. Nessas condições, o OEDr produziu predominantemente efeitos anestésicos, sem ultrapassar o limiar de toxicidade

aguda avaliado neste estudo. Em contraste, nos peixes do grupo 3 não foi observada mortalidade, mesmo em concentrações de até $250 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ durante o período de exposição. Nessas condições, o OEDr produziu predominantemente efeitos anestésicos, sem ultrapassar o limiar de toxicidade aguda avaliado neste estudo. Esse comportamento pode estar relacionado à distribuição dos constituintes do óleo em um maior volume corporal e à maior capacidade de biotransformação em indivíduos de maior porte, o que pode reduzir o acúmulo tecidual e a probabilidade de efeitos tóxicos agudos (Ferreira et al., 2021b; Jia et al., 2022; Topic Popovic et al., 2012). Ressalta-se, contudo, que tais interpretações permanecem hipotéticas, uma vez que parâmetros farmacocinéticos não foram diretamente mensurados.

É importante lembrar que a composição química do óleo tem papel central. Constituintes como o endo-fenchol e seu fenchil-acetato são monoterpenos/cicloalifáticos lipofílicos que cruzam membranas biológicas e podem afetar o sistema nervoso central; em baixas doses promovem sedação e anestesia, em excesso prejudicam respiração, equilíbrio iônico e outras funções vitais. A literatura sobre farmacologia de constituintes de óleos essenciais e estudos de composição química confirma tanto a presença desses compostos em certas espécies quanto a facilidade de permeação de compostos lipofílicos e seus efeitos sobre o SNC (Bunse et al., 2022; Dobetsberger; Buchbauer, 2011; Sharma et al., 2025).

Do ponto de vista prático, os resultados demonstram que o tamanho corporal do peixe é uma variável crítica na definição de protocolos de uso do óleo essencial. Aquilo que funciona de forma segura em peixes maiores pode representar um risco sério — até letal — para animais mais jovens. Isso mostra que padronizações muito rígidas ou “universais” não são adequadas. O ideal é pensar em faixas de dose específicas para cada classe de peso ou idade, sempre validando não só a eficácia na indução e recuperação, mas também a segurança, levando em conta a mortalidade e indicadores fisiológicos. Inclusive, diretrizes e revisões metodológicas sobre anestesia em peixes já reforçam esse ponto: a necessidade de ajustar dose e tempo conforme a espécie, o tamanho e a finalidade do procedimento (Ackerman; Morgan; Iwama, 2005; Rodrigues Brandão et al., 2022b).

De modo geral, evidencia-se que os efeitos do óleo de *D. riparius* não dependem exclusivamente da concentração aplicada, mas variam em função das características

biológicas dos organismos expostos. Em indivíduos de menor porte, a toxicidade aguda foi pronunciada, enquanto, em peixes de maior biomassa, não foi observada mortalidade nas condições avaliadas, com predominância de efeitos anestésicos. Por outro lado, nos organismos de maior biomassa, o óleo demonstrou ser uma alternativa promissora e segura como anestésico natural. Este contraste não apenas amplia a compreensão do potencial farmacológico da espécie vegetal, como também ressalta a necessidade de considerar variáveis biológicas intrínsecas como peso, estágio de desenvolvimento e metabolismo na avaliação de novos compostos bioativos (Bunse et al., 2022; Matthee et al., 2023).

Embora este trabalho forneça subsídios sólidos para o uso do óleo em Embora o presente estudo forneça subsídios experimentais relevantes, ele deve ser interpretado como uma etapa inicial. Recomenda-se a ampliação das investigações para diferentes espécies, classes de tamanho e condições ambientais, bem como a avaliação de efeitos subcrônicos e crônicos e a elucidação dos mecanismos de ação dos principais constituintes. Tais abordagens serão essenciais para avaliar de forma mais abrangente a aplicabilidade do óleo de *D. riparius* em contextos de manejo aquícola.

Apesar dos avanços alcançados, este trabalho deve ser entendido como um ponto de partida. As condições aplicadas como o tamanho dos peixes, o tempo de exposição e a temperatura da água foram escolhidas para garantir comparabilidade entre os testes, mas não refletem todas as situações possíveis. Cada espécie, faixa etária ou ambiente pode responder de maneira diferente. Por isso, é fundamental que novas pesquisas ampliem esses parâmetros, avaliem diferentes espécies e explorem possíveis efeitos crônicos e mecanismos de ação dos principais compostos. A continuidade dessas investigações é essencial para transformar esse conhecimento em aplicações seguras e eficazes dentro da aquicultura.

7. Conclusão

Os resultados indicam que o óleo essencial de *Dizygostemon riparius* apresenta efeitos dependentes da concentração e do tamanho corporal dos peixes, manifestando-se como agente anestésico em determinadas condições e como agente tóxico em concentrações mais elevadas. A predominância de monoterpenos oxigenados, particularmente acetato de endo-fenchila e endo-fenhol, pode estar associado aos efeitos observados, embora não seja possível estabelecer causalidade direta com base no presente estudo.

Adicionalmente, os resultados mostraram uma resposta claramente dependente da concentração e do tamanho dos animais. Nos peixes menores (aproximadamente 3,3 g), o óleo apresentou toxicidade aguda a partir de cerca de $46,9 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, com mortalidade total em concentrações próximas de $70 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. Já nos peixes maiores (em torno de 15 g), não houve mortalidade, mesmo nas condições avaliadas, e o óleo se comportou principalmente como um anestésico, reduzindo o tempo de indução de acordo com o aumento da dose.

Nas condições testadas, concentrações em torno de $120 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ estiveram associadas à indução de anestesia, enquanto concentrações entre $75\text{--}100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ estiveram associadas apenas à sedação. Esses achados sugerem a existência de faixas de concentração com diferentes profundidades de efeito, mas não permitem inferir segurança de uso em sentido amplo. A variabilidade de resposta entre classes de tamanho reforça a necessidade de protocolos específicos por biomassa e de estudos adicionais.

Por fim, ressalta-se que as conclusões se restringem à avaliação de toxicidade aguda e parâmetros comportamentais (sedação/anestesia, tempos de indução e recuperação). Investigações futuras devem incluir avaliações subcrônicas/crônicas, histopatológicas e farmacocinéticas para uma apreciação mais abrangente da aplicabilidade do óleo de *D. riparius* em contextos de manejo aquícola.

REFERÊNCIAS

- ADAMS, Robert P. **Identification of essential oil components by gas chromatography/quadrupole mass spectroscopy**. [S.l.: S.n.].
- AL-HUSSAINY, A. D. L.; IDBAEES, H. I.; RHUDA, S. A. A. Antibacterial effect of phenolic extracts of *Plantago lanceolata*, *Convolvulus arvensis* and *Euphorbia granulate* leaves against human pathogenic bacteria. **Journal of Wasit for Science and Medicine**, v. 8, n. 4, p. 16–29, 2022.
- ALY SHAZA H. AND THABET, Amany A. and Abd El Hafeez Mohamed S. and Abdelbadie Fatma A. and Elhawary Esraa A. and El-Nashar Heba A. S. and Gamal El-Din Mariam I. and El-Shazly Mohamed. Iridoid Glycosides of *Plantago*: Botany, Chemistry, Bioactivity, and Metabolism. In: RAMAWAT KISHAN GOPAL AND MÉRILLON, Jean-Michel (Org.). **Natural Products: Phytochemistry, Botany, Metabolism of Alkaloids, Phenolics and Terpenes**. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2025. p. 1–43.

AMIN, Elham *et al.* *Plantago boissieri*: Phytochemical Assessment, Antioxidant, Anti-inflammatory and Wound Healing Potential. **Chemistry & Biodiversity**, v. 22, n. 3, p. e202401718, 2025.

AYDIN, Baki. Anaesthetic efficacy of eugenol in doctor fish (*Garra rufa*): Behavioural and cardiovascular responses. **Aquaculture Research**, v. 53, n. 18, p. 6419–6429, 2022.

AYDIN, Baki; BARBAS, Luis André L. Sedative and anesthetic properties of essential oils and their active compounds in fish: A review. **Aquaculture**, v. 520, p. 734999, 15 abr. 2020.

BIANCHINI, A. E. *et al.* Monoterpenoids (thymol, carvacrol and S- (+)-linalool) with anesthetic activity in silver catfish (*Rhamdia quelen*): evaluation of acetylcholinesterase and GABAergic activity. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research = Revista brasileira de pesquisas médicas e biológicas**, v. 50, n. 12, p. e6346, 2017.

BOAVENTURA, Tulio Pacheco *et al.* Use of eugenol, benzocaine or salt during the transport of panga, *Pangasianodon hypophthalmus* (Sauvage, 1878): Effects on water quality, haematology and blood biochemistry. **Aquaculture Research**, v. 53, n. 4, p. 1395–1403, 2022a.

BOAVENTURA, Túlio Pacheco. **Uso do óleo essencial de *Ocimum gratissimum* L. durante anestesia e transporte do pacamã *Lophiosilurus alexandri*: hematologia, bioquímica e estresse oxidativo**. Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais, 2022.

BOAVENTURA, Tulio Pacheco *et al.* Thymol and linalool chemotypes of the essential oil of *Thymus vulgaris* (thyme) as anesthetic for *Colossoma macropomum*: Physiology and feed consumption. **Aquaculture**, v. 554, p. 738161, 30 maio 2022b.

BODUR, Türker *et al.* Assessment of effective dose of new herbal anesthetics in two marine aquaculture species: *Dicentrarchus labrax* and *Argyrosomus regius*. **Aquaculture**, v. 482, p. 78–82, 1 jan. 2018.

BRANDÃO, Clenilma M. *et al.* Composition and Larvicidal Activity of the Oil of *Dizygostemon riparius* (Plantaginaceae), a New Aromatic Species Occurring in Maranhão, Brazil. **Chemistry & Biodiversity**, v. 17, n. 11, p. e2000462, 2020.

BRANDÃO, Franmir Rodrigues. **Anestesia e transporte de *Colossoma macropomum* com os 'oleos essenciais de *Aloysia triphylla*, *Lippia sidoides* e *Mentha piperita***. Manaus: Universidade Federal do Amazonas, 2020.

BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA E PECUÁRIA. **Legislação de Produtos de Origem Vegetal**. , 2025. Disponível em: <<https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-vegetal/legislacao-de-produtos-origem-vegetal/legislacaoPOV>>

BULLANGPOTI, Vasakorn *et al.* Acute toxicity of essential oil compounds (thymol and 1,8-cineole) to insectivorous guppy, *Poecilia reticulata* Peters, 1859. **Agriculture and Natural Resources**, v. 52, n. 2, p. 190–194, 1 abr. 2018.

CHRISTENHUSZ, Maarten J. M.; BYNG, James. The number of known plants species in the world and its annual increase. **Phytotaxa**, v. 261, n. 3, p. 201–217, 2016.

CHRISTIE, K. *et al.* Local adaptation of seed and seedling traits along a natural aridity gradient may both predict and constrain adaptive responses to climate change. **American Journal of Botany**, v. 109, n. 10, p. 1529–1544, 2022.

CHRISTIE, K. *et al.* Resurrected seeds from herbarium specimens reveal rapid evolution of drought resistance in a selfing annual. **American Journal of Botany**, v. 110, n. 12, p. e16265, 2023.

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

DA SILVA COSTA, Jonas *et al.* Potencial anestésico do óleo essencial de capim santo (*Cymbopogon citratus*) (Poaceae) em alevinos de tambaqui (*Colossoma macropomum*). *In*: 2022.

DA SILVA JR, Ivanildo Inacio *et al.* Essential oils produce developmental toxicity in zebrafish embryos and cause behavior changes in zebrafish larvae. **Biomedicines**, v. 11, n. 10, p. 2821, 2023.

DA SILVA, Kiara Cândido Duarte. **Efeitos do óleo essencial de *Cymbopogon citratus* em zebrafish (*Danio rerio*)**. [S.l.: S.n.].

DA SILVA, Rafael Carvalho *et al.* Anesthetic effect and acute toxicity of *Citrus sinensis* essential oil in *Betta splendens*. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 49, n. e816, 2023.

DE CÁSSIA DA SILVEIRA E SÁ, Rita; ANDRADE, Luciana Nalone; DE SOUSA, Damião Pergentino. A review on anti-inflammatory activity of monoterpenes. **Molecules**, v. 18, n. 1, p. 1227–1254, 2013.

DE FREITAS SOUZA, Carine *et al.* Citral and linalool chemotypes of *Lippia alba* essential oil as anesthetics for fish: a detailed physiological analysis of side effects during anesthetic recovery in silver catfish (*Rhamdia quelen*). **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 44, n. 1, p. 21–34, 2018.

DHIFI, Wissal *et al.* Essential oils' chemical characterization and investigation of some biological activities: A critical review. **Medicines**, v. 3, n. 4, p. 25, 2016.

DOS ANJOS, Aline Cristina Paulino; ISAAC, Andréia. The efficacy and dosage of *Mentha piperita* essential oil in the control of Monogenean parasites in *Oreochromis niloticus*. **Journal of Parasitic Diseases**, v. 44, n. 3, p. 597–606, 2020.

DOS SANTOS BATISTA, Erix *et al.* Lippia alba essential oil as anesthetic for tambaqui. **Aquaculture**, v. 495, p. 545–549, 1 out. 2018.

FAÇANHA, Michelle Ferreira; GOMES, Levy de Carvalho. A eficácia do mentol como anestésico para tambaqui (*Colossoma macropomum*, Characiformes: Characidae). **Acta Amazonica**, v. 35, p. 71–75, 2005.

FARID, A. *et al.* Evaluation of anti-inflammatory effects of leaf and seed extracts of *Plantago major* on acetic acid-induced ulcerative colitis in rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 298, p. 115595, 2022.

FÉLIX, Luís *et al.* A meta-analytic review of monoterpene for fish anaesthesia. **Fish and Fisheries**, v. 24, n. 3, p. 367–380, 2023.

FÉLIX, Luís; MONTEIRO, Sandra M.; VENÂNCIO, Carlos. Evaluation of thymol application for anaesthesia of adult zebrafish. **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 51, n. 5, p. 155, 2025a.

FERRO, Juan Pablo; FERRARI, Lucrecia; EISSA, Bettina Lorena. Acute toxicity of cadmium to freshwater fishes and its relationship with body size and respiratory strategy. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology**, v. 248, p. 109109, 2021.

FÉLIX, Luís; MONTEIRO, Sandra M.; VENÂNCIO, Carlos. Menthol as a sustainable alternative anaesthetic for adult zebrafish (*Danio rerio*). **Veterinary Research Communications**, v. 49, n. 5, p. 288, 2025b.

FORTES, C. H. M. *et al.* Anesthetic potential of essential oils from Brazilian native plants in *Rhamdia quelen* juveniles (silver catfish). **Neotropical Ichthyology**, v. 22, n. 3, p. e240034, 2024.

GALVÃO, F. S. *et al.* Seasonal and Circadian Evaluation of the Essential Oil of *Dizygostemon riparius* (Plantaginaceae), a Wild Flavoring Herb from East Maranhão, Brazil. **Chemistry & Biodiversity**, v. 20, n. 8, p. e202300864, 2023.

GERTSCH, Jürg *et al.* Beta-caryophyllene is a dietary cannabinoid. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 105, n. 26, p. 9099-9104, 2008.

GOLKAR, Pooran; FOTOOHI, Ahmad; GHORBANPOUR, Mansour. Chemical diversity among the essential oils of different wild growing *Plantago* species in Iran. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 72, n. 3, p. 3671–3682, 2025.

HEINRICH, M. Ethnobotany and natural products: the search for new molecules, new treatments of old diseases or a better understanding of indigenous cultures? **Current Topics in Medicinal Chemistry**, v. 3, n. 2, p. 141–154, 2003.

HELDWEIN, C. G. *et al.* Participation of the GABAergic system in the anesthetic effect of *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown essential oil. **Brazilian Journal of Medical and Biological**

Research = Revista brasileira de pesquisas médicas e biológicas, v. 45, n. 5, p. 436–443, 2012.

HENTZ JÚNIOR, E. J. *et al.* Taxonomic synopsis of Plantaginaceae and Scrophulariaceae (Lamiales) in Iguazú and Iguazu National Parks (Argentina and Brazil). **Rodriguésia**, v. 75, p. e00892023, 2024.

HOGGARD, R. K. *et al.* Molecular systematics and biogeography of the amphibious genus *Littorella* (Plantaginaceae). **American Journal of Botany**, v. 90, n. 3, p. 429–435, 2003.

HOSEINI, Seyyed Morteza; TAHERI MIRGHAED, Ali; YOUSEFI, Morteza. Application of herbal anaesthetics in aquaculture. **Reviews in Aquaculture**, v. 11, n. 3, p. 550–564, 2019.

HUBSCHMANN, Hans-Joachim. **Handbook of GC-MS: Fundamentals and Applications**. 2. ed. Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2009.

INTERNATIONAL PLANT NAMES INDEX (IPNI). **Dizygostemon riparius**. , 2025. Disponível em: <<https://www.ipni.org/n/urn:lsid:ipni.org:names:802150-1>>

JSTOR GLOBAL PLANTS. **Specimen US00122492**. , 2025. Disponível em: <<https://plants.jstor.org/stable/10.5555/al.ap.specimen.us00122492>>

KEENE, J. L. *et al.* The efficacy of clove oil as an anaesthetic for rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). **Aquaculture Research**, v. 29, n. 2, p. 89 – 101, 1998.

KIZAK, Volkan *et al.* Anesthetic efficacy of *Cymbopogon citratus* essential oil as a herbal agent in two ornamental fish species. **Aquaculture**, v. 495, p. 726–731, 2018.

KREPSKY, Patrícia Baier; NEVES, Dilaine Suellen Caires; SANTANA, Gabriela Nunes. Variação intraespecífica na composição e teor do óleo essencial de *Lippia thymoides*. **Revista Fitos**, v. 15, n. 2, p. 192–203, 2021.

KURT, B. *et al.* Effects of *Plantago lanceolata* L. extract on full-thickness excisional wound healing in a mouse model. **Biotechnic & Histochemistry: Official Publication of the Biological Stain Commission**, v. 93, n. 4, p. 249–257, 2018.

KUTLUAY, V. M. *et al.* New knowledge about old drugs; a cardenolide type glycoside with cytotoxic effect and unusual secondary metabolites from *Digitalis grandiflora* Miller. **Fitoterapia**, v. 134, p. 73–80, 2019.

LAM, Phuong Hong *et al.* Anesthetic Effects of Clove Basil Essential Oil (*Ocimum gratissimum*) Microemulsion on Asian Redtail Catfish (*Hemibagrus wyckioides*) and Its Biochemical Stress Indicators. **Fishes**, v. 10, n. 3, p. 104, 2025.

LYU, Shanwu *et al.* Genome assembly of the pioneer species *Plantago major* L. (Plantaginaceae) provides insight into its global distribution and adaptation to metal-contaminated soil. **DNA research : an international journal for rapid publication of reports on genes and genomes**, v. 30, n. 4, p. dsad013, ago. 2023.

MALDANER, Joseila *et al.* Bioherbicide and anesthetic potential of Aniba canelilla essential oil, a contribution to the demands of the agricultural sector. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 42, p. 102353, 2022.

MALHEIROS, Dayna Filocreão *et al.* Toxicity of the essential oil of *Mentha piperita* in *Arapaima gigas* (pirarucu) and antiparasitic effects on *Dawestrema* spp. (Monogenea). **Aquaculture**, v. 455, p. 81–86, 20 mar. 2016.

MALHEIROS, Dayna Filocreão; TAVARES-DIAS, Marcos. **Concentração letal (CL50) do óleo essencial de *Mentha piperita* (Lamiaceae) em pirarucus *Arapaima gigas*. [S.l.: S.n.]**.

MARRIOTT, P. J.; SHELLIE, R.; CORNWELL, C. Gas chromatographic technologies for the analysis of essential oils. **Journal of Chromatography A**, v. 936, n. 1–2, p. 1–22, 2001.

MASYITA, Ayu *et al.* Terpenes and terpenoids as main bioactive compounds of essential oils, their roles in human health and potential application as natural food preservatives. **Food chemistry: X**, v. 13, p. 100217, 2022.

MEDEIROS-SILVA, Renata Maria *et al.* Eugenol na anestesia da tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Agrarian**, v. 7, n. 26, p. 590–597, 2014.

METIN, Secil; OZDIKYAR, Onur; TELCI, Isa. Anesthetic efficacy of *Mentha piperita* and *Mentha spicata* essential oils on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Journal of Fisheries**, v. 13, n. 2, p. 132203, 2025.

MEUDT, HEIDI M.; SIMPSON, BERYL B. The biogeography of the austral, subalpine genus *Ourisia* (Plantaginaceae) based on molecular phylogenetic evidence: South American origin and dispersal to New Zealand and Tasmania. **Biological Journal of the Linnean Society**, v. 87, n. 4, p. 479–513, 2006.

MIHAYLOVA, R. *et al.* Targeting Inflammation with Natural Products: A Mechanistic Review of Iridoids from Bulgarian Medicinal Plants. **Molecules**, v. 30, n. 17, p. 3456, 2025.

OF STANDARDS, National Institute; TECHNOLOGY. **NIST/EPA/NIH Mass Spectral Library (NIST17)**. , 2017. Disponível em: <https://chemdata.nist.gov/>

Organização das Nações Unidas. **Transforming our world: the 2030 Agenda for Sustainable Development**. Disponível em: <https://sdgs.un.org/2030agenda>

PARK, I. S. *et al.* Anesthetic effects of lidocaine-hydrochloride on water parameters in simulated transport experiment of juvenile winter flounder, *Pleuronectes americanus*. **Aquaculture**, v. 294, n. 1–2, p. 76–79, 1 set. 2009.

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

PETRUZZELLO, Melissa. **Plantaginaceae.** , 2023. Disponível em: <<https://www.britannica.com/plant/Plantaginaceae>>

POLEDNIK, Katherine M.; KOCH, Abby C.; FELZIEN, Lisa K. Effects of essential oil from *Thymus vulgaris* on viability and inflammation in zebrafish embryos. **Zebrafish**, v. 15, n. 4, p. 361–371, 2018.

RIBEIRO, Allyson Soares *et al.* Anesthetic properties of *Ocimum gratissimum* essential oil for juvenile matrinxã. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v. 38, n. 1, p. 1–7, 2016.

RODRIGUES BRANDÃO, Franmir *et al.* Essential oils as anaesthetics and sedatives in native Brazilian fish, with a special emphasis on *Colossoma macropomum*: A review. **Aquaculture Research**, v. 53, n. 3, p. 767–781, 2022a.

RODRIGUES BRANDÃO, Franmir *et al.* Essential oils as anaesthetics and sedatives in native Brazilian fish, with a special emphasis on *Colossoma macropomum*: A review. **Aquaculture Research**, v. 53, n. 3, p. 767–781, 2022b.

ROYAL BOTANIC GARDENS KEW. **Dizygostemon Radlk. ex Wettst.** , 2025a.

ROYAL BOTANIC GARDENS KEW. **Dizygostemon floribundus (Benth.) Radlk.** , 2025b. Disponível em: <<https://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:82582-2>>

SANTOS, P. R. *et al.* **Toxicidade aguda do óleo essencial de *Aloysia triphylla* em *Colossoma macropomum*. [S.l.: S.n.].**

SANTOS, P. R. *et al.* Acute toxicity of essential oils of *Aloysia triphylla* (L'Hér.) Britton, *Lippia gracilis* Schauer, and *Piper aduncum* L. in *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818). **Brazilian Journal of Biology**, v. 83, p. e272853, 2023b.

SCATIGNA, Andr'e Vito *et al.* *Dizygostemon riparius* (Plantaginaceae, Gratioleae), a new species from Maranhão, northeastern Brazil. **Willdenowia**, v. 49, n. 2, p. 177–186, 2019.

SHARMA, Charu *et al.* Polypharmacological properties and therapeutic potential of β -caryophyllene: a dietary phytocannabinoid of pharmaceutical promise. **Current pharmaceutical design**, v. 22, n. 21, p. 3237-3264, 2016.

SILVA, L. L. *et al.* Sedative and anesthetic activities of the essential oils of *Hyptis mutabilis* (Rich.) Briq. and their isolated components in silver catfish (*Rhamdia quelen*). **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 46, n. 9, p. 771–779, 2013.

SMALL, Brian C. Anesthetic efficacy of metomidate and comparison of plasma cortisol responses to tricaine methanesulfonate, quinaldine and clove oil anesthetized channel catfish *Ictalurus punctatus*. **Aquaculture**, v. 218, n. 1–4, p. 177–185, 27 mar. 2003.

SOUSA, Brendha Araújo de. **Caracterização química e potencial biotecnológico de nanoemulsões óleo-em-água (O/A) incorporadas com óleo essencial de *Dizygostemon riparius*.** São Luís: Universidade Federal do Maranhão, 2023.

SOUZA, Carine F. *et al.* Is monoterpene terpinen-4-ol the compound responsible for the anesthetic and antioxidant activity of *Melaleuca alternifolia* essential oil (tea tree oil) in silver catfish? **Aquaculture**, v. 486, p. 217–223, 3 fev. 2018.

SOUZA, Carine de Freitas *et al.* Physiological responses of *Rhamdia quelen* (Siluriformes: Heptapteridae) to anesthesia with essential oils from two different chemotypes of *Lippia alba*. *Neotropical Ichthyology*, v. 15, n. 01, p. e160083, 2017.

SOUZA, Vinicius Castro; GIULIETTI, Ana Maria. Levantamento das espécies de Scrophulariaceae sensu lato nativas do Brasil. **Pesquisas. Botânica**, n. 60, p. 1–288, 2009.

STRINGHETTA, GIOVANNA R. *et al.* Oxidative stress responses of juvenile tambaqui *Colossoma macropomum* after short-term anesthesia with benzocaine and MS-222. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 89, n. 3, p. 2209–2218, 2017.

TABARRAEI, Hadi; HASSAN, Jalal; MOSAVI, Shamsi Sadat. Determination of LD50 of some essential oils and histopathological changes in short-term exposure to one of them in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Toxicology Research and Application**, v. 3, p. 2397847318820719, 2019.

TAO, Y. *et al.* Eugenol exposure inhibits embryonic development and swim bladder formation in zebrafish. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology**, v. 268, p. 109602, 2023.

THITINARONGWATE, Wisit *et al.* Phytochemical and safety evaluations of *Zingiber officinale* essential oil in zebrafish embryos and rats. **Toxics**, v. 9, n. 5, p. 102, 2021.

THOMAS, Eluiza *et al.* Chemical composition and toxicity of the essential oil of *Aloysia Pal'au* species (Verbenaceae) from South Brazil. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 1, p. e55111121569–e55111121569, 2022.

TUREL, I. *et al.* Hepatoprotective and anti-inflammatory activities of *Plantago major* L. **Indian Journal of Pharmacology**, v. 41, n. 3, p. 120–124, 2009.

VALLADÃO, Gustavo Moraes Ramos. **Potencial de óleos essenciais de plantas para o tratamento de enfermidade em peixes**. Jaboticabal: Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP), 2014.

WETHERWAX, M. **Plantaginaceae**. , 2020. Disponível em: <https://ucjeps.berkeley.edu/eflora/eflora_display.php?tid=220>

WOODY, C. A.; NELSON, J.; RAMSTAD, K. Clove oil as an anaesthetic for adult sockeye salmon: field trials. **Journal of Fish Biology**, v. 60, n. 2, p. 340–347, 2002.

WORLD FLORA ONLINE. **World Flora Online**. , 2024. Disponível em: <<https://www.worldfloraonline.org>>

XU, Yidan *et al.* The pharmacokinetic and residue depletion study of eugenol in carp (*Cyprinus carpio*). **Frontiers in Veterinary Science**, v. 9, p. 1097812, 2023.

YIGIT, Nalan Ozgur *et al.* Efficiency of Ocimum basilicum and Eucalyptus globulus essential oils on anesthesia and histopathology of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 53, n. 5, p. 1051–1061, 2022.

United Nations Environment Programme. Global Chemicals Outlook II – From **Legacies to Innovative Solutions: Implementing the 2030 Agenda for Sustainable Development**. 2019. Disponível em: <https://www.unep.org/resources/report/global-chemicals-outlook-ii-legacies-innovative-solutions>

ZHAKIPBEKOV, K. *et al.* Antimicrobial and Other Biomedical Properties of Extracts from *Plantago major*, Plantaginaceae. **Pharmaceuticals (Basel)**, v. 16, n. 8, p. 1092, 2023a.

ZHAKIPBEKOV, K. *et al.* Antimicrobial and Other Biomedical Properties of Extracts from *Plantago major*, Plantaginaceae. **Pharmaceuticals (Basel, Switzerland)**, v. 16, n. 8, p. 1092, 2023b.

ZHANG, Zhenyu *et al.* Plastid phylogenomic insights into the inter-tribal relationships of Plantaginaceae. **Biology**, v. 12, n. 2, p. 263, 2023a.

ZHANG, Zhenyu *et al.* Plastid phylogenomic insights into the inter-tribal relationships of Plantaginaceae. **Biology**, v. 12, n. 2, p. 263, 2023b.