

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta tese
será disponibilizado somente a partir
de 05/09/2025.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP –CAUNESP

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA

**ATIVIDADE ANTIPARASITÁRIA DE ÓLEOS ESSENCIAIS
CONTRA TRICODINÍDEOS: DESENVOLVIMENTO DE
METODOLOGIA, EFICÁCIA E SEGURIDADE**

Lindomar de Oliveira Alves

Zootecnista

JABOTICABAL – SÃO PAULO

2023

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

CENTRO DE AQUICULTURA DA UNESP –CAUNESP

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA

**ATIVIDADE ANTIPARASITÁRIA DE ÓLEOS ESSENCIAIS
CONTRA TRICODINÍDEOS: DESENVOLVIMENTO DE
METODOLOGIA, EFICÁCIA E SEGURIDADE**

Lindomar de Oliveira Alves

Orientadora: Dra. Fabiana Pilarski

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Aquicultura como parte das exigências para a obtenção do título de Doutor em Aquicultura.

JABOTICABAL – SÃO PAULO

2023

A474a Alves, Lindomar de Oliveira
Atividade antiparasitária de óleos essenciais contra tricodinídeo:
desenvolvimento de metodologia, eficácia e seguridade / Lindomar de
Oliveira Alves. -- Jaboticabal, 2023
xiv, 84 p. : il. ; 29 cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Centro de
Aquicultura, 2023
Orientadora: Fabiana Pilarski
Banca examinadora: Geovana Dotta Tamashiro, Gustavo Moraes
Ramos Valladão, Ricardo Massato Takemoto, Sílvia Umeda Gallani
Bibliografia

1. Antiparasitários. 2. Fitoterapia. 3. Peixes Parasitos. 4. Técnicas in
vitro. I. Título. II. Jaboticabal-Centro de Aquicultura.

CDU 639.3.09

IMPACTO POTENCIAL DESTA PESQUISA

Espera-se que a tese aqui apresentada sirva como base para o desenvolvimento de pesquisas de antiparasitários a serem empregados em sistemas produtivos. A metodologia para avaliar a efetividade *in vitro* de substâncias com potencial antiparasitário desenvolvida e apresentada na presente tese pode ser utilizada como uma ferramenta para escolha das substâncias mais adequadas antes da realização de testes *in vivo*, facilitando a escolha das substâncias e proporcionando uma redução do número de peixes empregados em estudos *in vivo*. Espera-se também que alerte os pesquisadores e produtores quanto a necessidade de utilização de substâncias seguras para os hospedeiros quando do uso de tratamentos. Por fim, a tese apresenta um objetivo de auxiliar no desenvolvimento de metodologia de tratamentos de peixes afetados com tricotodínídeos adotando substâncias com baixo potencial tóxico e poluidor.

POTENTIAL IMPACT OF THIS RESEARCH

It is expected that the thesis presented here will serve as a foundation for the development of anti-parasitic research to be employed in productive systems. The methodology for evaluating the *in vitro* effectiveness of substances with potential anti-parasitic properties developed and presented in this thesis can be used as a tool for selecting the most suitable substances before conducting *in vivo* tests, facilitating substance selection and reducing the number of fish used in *in vivo* studies. It is also expected to alert researchers and producers to the need for using safe substances for hosts when using treatments. Finally, the thesis aims to assist in the development of treatment methodologies for fish affected by trichodinids by adopting substances with low potential for toxicity and pollution.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: Atividade antiparasitária de óleos essenciais contra tricodínídeo: desenvolvimento de metodologia, eficácia e seguridade

AUTOR: LINDOMAR DE OLIVEIRA ALVES

ORIENTADORA: FABIANA PILARSKI

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em Aquicultura, pela Comissão Examinadora:

Profa. Dra. FABIANA PILARSKI (Participação Virtual)

Laboratório de Microbiologia e Parasitologia de Organismos Aquáticos / Centro de Aquicultura, CAUNESP, Jaboticabal-SP

Fabiana Pilarski

Prof. Dr. GUSTAVO MORAES RAMOS VALLADÃO (Participação Virtual)
/ Universidade Nilton Lins, Manaus-AM

gov.br

Documento assinado digitalmente
GUSTAVO MORAES RAMOS VALLADÃO
Data: 06/09/2023 13:08:50-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Prof. Dr. RICARDO MASSATO TAKEMOTO (Participação Virtual)

Centro de Ciências Biológicas-Núcleo de Pesquisas em Limnologia, Ictiologia e Aquicultura / UEM, Maringá-SP

gov.br

Documento assinado digitalmente
RICARDO MASSATO TAKEMOTO
Data: 11/09/2023 10:45:39-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Profa. Dra. GEOVANA DOTTA (Participação Virtual)

Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Produção Animal / UFBA, Salvador-BA

Geovana Dotta

Profa. Dra. SÍLVIA UMEDA GALLANI (Participação Virtual)
/ Universidade Nilton Lins, Manaus-AM

gov.br

Documento assinado digitalmente
SÍLVIA UMEDA GALLANI
Data: 06/09/2023 11:33:26-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Jaboticabal, 05 de setembro de 2023

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus pais, Maria e Aparecido (in memoriam), pelo carinho e por me apoiarem em todas as minhas decisões. À minha mãe, por ser o exemplo que é para mim e meus irmãos; mulher batalhadora e mãe dedicada, que em nenhum momento duvidou da minha capacidade e sempre fez o possível e o impossível para que eu pudesse alcançar meus sonhos.

Ao meu padrasto José Carlos que me apoiou e esteve sempre presente nesta caminhada.

Aos meus irmãos, Ledinalva, Juliano e Josimar, pelo carinho, incentivo e companheirismo em todos os momentos da minha vida.

A minha orientadora Dra. Fabiana Pilarski, por ter dado inúmeras oportunidades desde o período de estágio do curso técnico, durante a graduação e pós-graduação. Por ter confiado e apoiado durante períodos difíceis. Pela amizade, confiança e aprendizado.

Aos colegas e amigos do Laboratório de Microbiologia e Parasitologia de Organismos Aquáticos do Centro de Aquicultura da Unesp - LAPOA/Caunesp, pela ajuda na execução do trabalho, companheirismo e aprendizado.

Aos colegas e amigos do Departamento de Genética e Evolução da UFSCar que sempre me apoiaram e foram uma fonte de inspiração para que pudesse continuar e encerrar esta etapa importante da minha vida.

A Dra. Hírla C. S. Fukushima e Prof. Dr. Ricardo C. Borra pela disponibilização dos animais, ensinamentos e auxílio na realização do teste de embriotoxicidade.

Aos colegas discentes, funcionários e professores do Centro de Aquicultura da UNESP (CAUNESP).

Aos professores Geovana Dotta Tamashiro, Gustavo M. R. Valladão, Ricardo M. Takemoto, Sílvia U. Gallani, pelas correções e ajuda nas bancas de qualificação e defesa.

Apoio Financeiro

O presente trabalho foi financiado pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Bolsa de Doutorado, Processo nº: 141017/2019-8.

O presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 00.

Sumário

Resumo	xiii
Abstract	xiv
1. Introdução Geral	1
1.1. Panorama geral da piscicultura	1
1.2. Tilápia-do Nilo	1
1.3. Tricodinídeos	2
1.4. Tratamentos de parasitoses na piscicultura	3
1.5. Uso de fitoterápicos para tratamento de parasitoses de peixes	4
2. Objetivo	5
2.1. Objetivos específicos	5
MANUSCRITO I	6
Desenvolvimento de metodologia para avaliação da atividade antiparasitária <i>in vitro</i> de óleos essenciais de plantas contra tricodinídeos	6
Resumo	6
Abstract	7
1. Introdução	8
2. Material e Métodos	9
2.1. Óleos essenciais e composição	9
2.2. Atividade <i>in vitro</i> de óleos essenciais contra <i>Trichodina</i> spp.	10
2.2.1. Obtenção dos parasitos	10
2.2.2. Preparo das soluções	10
2.2.3. Exposição de tricodinídeos aos OEs	11
2.3. Análise Estatística	12
3. Resultados	12
3.1. Composição dos óleos essenciais	12
3.2 Atividade <i>in vitro</i> de óleos essenciais contra <i>Trichodina</i> spp.	13
4. Discussão	16
5. Conclusão	20
6. Referências bibliográficas	21
MANUSCRITO II	41
Toxicidade de óleos essenciais em peixes e eficácia de óleo essencial de <i>Eucalyptus globulus</i> contra tricodinídeos em tilápia-do-Nilo	41
Resumo	41

Abstract	42
1 Introdução.....	43
2 Material e Métodos	44
2.1 Teste de citotoxicidade.....	44
2.2 Teste de embriotoxicidade.....	46
2.2.1 Obtenção dos embriões de Zebrafish	46
2.2.2 Preparo das soluções testadas.....	47
2.2.3 Procedimento experimental	47
2.3 Atividade <i>in vivo</i> de óleo essencial contra tricodinídeos.....	48
2.4 Análise Estatística:	48
3.1Citotoxicidade.....	49
3.2 Embriotoxicidade	50
3.3 Eficácia de óleo essencial de <i>Eucalyptus globulus</i> contra tricodinídeos.....	55
4 Discussão	55
5 Referências Bibliográficas	59
Referências - Introdução Geral.....	65
CONSIDERAÇÕES FINAIS	70

CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o projeto intitulado **"Uso de óleos essenciais como controle alternativo de tricodinídeos em tilápia-do-Nilo"**, protocolo nº 5880/23, sob a responsabilidade da Profa. Dra. FABIANA PILARSKI, que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao Filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da lei nº 11.794, de 08 de outubro de 2008, no decreto 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), da FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS, UNESP - CÂMPUS DE JABOTICABAL-SP, em reunião ordinária de 12 de julho 2023.

Vigência do Projeto	10/08/2023 a 31/10/2023
Espécie / Linhagem	Tilápia-do-Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>)
Nº de animais	26
Peso / Idade	100 – 300 g
Sexo	Machos e Fêmeas
Origem	Caunesp

Vigência do Projeto	10/08/2023 a 31/10/2023
Espécie / Linhagem	Zebrafish (<i>Danio rerio</i>)
Nº de animais	550
Peso / Idade	1,5h pós fertilização
Sexo	Machos e Fêmeas
Origem	Biotério da Universidade Federal de São Carlos - UFSCAR

Vigência do Projeto	10/08/2023 a 31/10/2023
Espécie / Linhagem	Tilápia-do-Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>)
Nº de animais	150
Peso / Idade	1,0
Sexo	Machos e Fêmeas
Origem	Caunesp

Jaboticabal, 12 de julho de 2023.



Profa. Dra. Paola Castro Moraes
Vice-coordenadora em exercício – CEUA FCAV

Resumo

Tricodinídeos são parasitos reconhecidos mundialmente por ocasionar perdas na piscicultura, sendo responsáveis por surtos principalmente quando há um desequilíbrio na relação hospedeiro-ambiente-parasito. Para controlar este ectoparasito, muitas vezes são utilizados quimioterápicos com funções antiparasitárias ou desinfetantes, sendo eles registrados ou não para uso na aquicultura. Dessa forma, o uso de fitoterápicos mostra-se como uma importante alternativa para reduzir o uso indiscriminado de produtos químicos e evitar perdas por tricodiníase. Diante dessa situação, o objetivo deste estudo foi prospectar um óleo essencial (OE) eficaz e seguro para o tratamento de tricodinídeos de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*). Inicialmente, foram investigados 13 OEs de plantas para determinar a composição química e atividade antiparasitária *in vitro*. Com os OEs mais promissores foram determinados os efeitos tóxicos no hospedeiro e a eficácia do OE de *Eucalyptus globulus*. Foram identificados 85 compostos entre os 13 OEs. Cinco OEs apresentaram eficácia contra tricodinídeos na menor concentração 60 $\mu\text{L L}^{-1}$ (*Citrus aurantifolia*, *Cupressus sempervirens*, *Eucalyptus globulus*, *Juniperus virginiana* e *Thymus vulgaris*), sendo então analisados quanto à citotoxicidade resultando em baixos percentuais de lise dos eritrócitos. Na análise de embriotoxicidade apenas o óleo essencial de *E. globulus* não apresentou toxicidade em nenhuma das doses testadas e efeito teratogênico leve foi observado apenas na maior concentração testada (200 mg L^{-1}). *E. globulus* apresentou uma redução na carga parasitária de juvenis de tilápia-do-Nilo independente da dose testada, alcançando efetividade entre 68,3-73,9%. Os resultados desse estudo evidenciam o potencial de uso de óleos essenciais no controle da tricodiníase em tilápia-do-Nilo

Palavras-chave: antiparasitários, fitoterapia, peixes parasitos, técnicas *in vitro*.

Abstract

Trichodinids are globally recognized parasites causing losses in aquaculture, often leading to outbreaks, especially when there is an imbalance in the host-environment-parasite relationship. To control this ectoparasite, chemotherapeutic agents with antiparasitic functions or disinfectants are often used, whether registered for use in aquaculture or not. Thus, the use of phytotherapeutics emerges as an important alternative to reduce the indiscriminate use of chemical products and prevent losses due to trichodiniasis. Given this situation, the objective of this study was to prospect an effective and safe essential oil (EO) for the treatment of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) trichodinids. Initially, 13 plant EOs were investigated to determine their chemical composition and in vitro antiparasitic activity. With the most promising EOs, toxic effects on the host and the efficacy of *Eucalyptus globulus* EO were determined. Eighty-five compounds were identified among the 13 EOs. Five EOs showed efficacy against trichodinids at the lowest concentration of 60 $\mu\text{l.l}^{-1}$ (*Citrus aurantifolia*, *Cupressus sempervirens*, *Eucalyptus globulus*, *Juniperus virginiana*, and *Thymus vulgaris*), which were then analyzed for cytotoxicity, resulting in low percentages of erythrocyte lysis. In embryotoxicity analysis, only the essential oil of *E. globulus* showed no toxicity at any of the tested doses, and mild teratogenic effects were observed only at the highest tested concentration (200 mg.l^{-1}). *E. globulus* demonstrated a reduction in trichodinid load in juvenile Nile tilapia regardless of the tested dose, achieving effectiveness between 68.3-73.9%. The results of this study highlight the potential use of essential oils in controlling trichodiniasis in Nile tilapia.

Keywords: antiparasitics, phytotherapy, fish parasites, in vitro techniques.

1. Introdução Geral

1.1. Panorama geral da piscicultura

A aquicultura tem aumentado significativamente nos últimos anos no Brasil, com produção atingindo um valor anual de 6,93 bilhões de reais em 2021 (IBGE, 2022). Com o aumento da demanda mundial por proteína de peixe e a estagnação da atividade de pesca extrativista, que se mantém estável desde a década de 1990 (FAO, 2014), a aquicultura tornou-se uma alternativa viável para suprir a demanda de peixes, registrando taxa de crescimento de 13,4% nas últimas três décadas (Tavares-Dias; Martins, 2017).

A grande variação climática e a disponibilidade de recursos entre as regiões brasileiras facilitam a produção de diferentes espécies de peixes em variadas condições de produção. Segundo o Anuário Brasileiro da Piscicultura (2023), publicado pela Associação Brasileira de Piscicultura (Peixe BR), o volume de peixes produzidos no país alcançou 860,3 mil toneladas, 2,3% a mais que as 841 mil toneladas em 2021. A tilápia-do-Nilo, *Oreochromis niloticus* é a principal espécie de peixe produzida no Brasil, sendo responsável por 63,93% do total produzido com 550,0 mil toneladas. Com um aumento de 3,0% da produção em relação a 2021, a tilápia-do-Nilo é produzida em praticamente todas as regiões do país, sendo os estados do Paraná (187.800 toneladas), São Paulo (77.300 toneladas) e Minas Gerais (51.700 toneladas) os maiores produtores atualmente (PEIXEBR, 2023).

1.2. Tilápia-do Nilo

A tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) é uma espécie altamente difundida e apresenta um grande papel econômico no mercado aquícola mundial, contribuindo tanto na renda de pequenos produtores, bem como sendo explorada comercialmente por grandes empresas, sendo produzida de forma intensiva em altas densidades com alta tecnologia, comercializada no mercado internacional em grande escala (Fitzsimmons; Martinez-Garcia; Gonzalez-Alanis, 2011; Furuya et al., 2008). A *O. niloticus* é a terceira espécie mais produzida em água doce no mundo, com produção superior a 4,4 milhões de toneladas em 2020, representando 9% do total de peixes produzido no mundo (FAO, 2022).

Este ciclídeo originário da bacia do rio Nilo, no Leste da África, é uma espécie de água doce com hábito alimentar onívoro, com alta plasticidade, encontrando-se distribuída em diversas regiões tropicais e subtropicais (Carvalho, 2006). Por apresentar diversas características favoráveis à criação, como a resistência ao manejo, crescimento acelerado, boa eficiência alimentar, suportar ampla variação de temperatura, salinidade e pH, tolerar baixos teores de oxigênio além de apresentar resistência a diversas enfermidades (Boscolo; Hayashi; Meurer, 2002; Zimmermann; Fitzsimmons, 2004) a tilápia é adotada como principal espécie produzida no Brasil, adotando-se sistemas produtivos mais intensivos em altas densidades de estocagem que pode favorecer o surgimento de enfermidades.

Neste contexto, por possuir um grande destaque na produção nacional e grande importância no mercado internacional, diversas pesquisas relacionadas às enfermidades que acometem a tilápia-do-Nilo, bem como alternativas de tratamento e prevenção são de extrema importância para aprimorar a produção.

5 Referências Bibliográficas

Abd El-Galil, M. A. A., Aboelhadid, S. M., 2012. Trials for the control of trichodinosis and gyrodactylosis in hatchery reared *Oreochromis niloticus* fries by using garlic. Vet. Parasitol., 185(2-4), 57-63. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2011.10.035>

Abdelkhalek, N. K., El-Adl, M. A., Salama, M. F., Elmishmishy, B., Ali, M. O., El-Ashram, A., Hamed, M. F., Al-Araby, M. A., 2018. Molecular identification of *Trichodina compacta* Van As and Basson, 1989 (Ciliophora: Peritrichia) from cultured *Oreochromis niloticus* in Egypt and its impact on immune responses and tissue pathology. Parasitol. Res., 117, 1907-1914. <https://doi.org/10.1007/s00436-018-5883-x>

Abo-Esa, J. F., 2008. Study on some ectoparasitic diseases of catfish, *Clarias gariepinus* with their control by ginger, *Zingiber officinale*. Mediterr. Aquac. J., 1(1), 1-9. <https://doi.org/10.21608/maj.2008.2658>

Aboud, O. A., 2010. Application of some Egyptian medicinal plants to eliminate *Trichodina* sp. and *Aeromonas hydrophila* in tilapia (*Oreochromis niloticus*). Researcher, 2(10), 12-16.

Ahmad, A., Khan, A., Manzoor, N., Khan, L. A., 2010. Evolution of ergosterol biosynthesis inhibitors as fungicidal against *Candida*. Microb. Pathog., 48(1), 35–41. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2009.10.001>

Akermi, S., Smaoui, S., Elhadeif, K., Fourati, M., Louhichi, N., Chaari, M., Mtibaa, A. C., Baanannou, A., Masmoudi, S., Mellouli, L., 2022. *Cupressus sempervirens* essential oil: exploring the antibacterial multitarget mechanisms, chemcomputational toxicity prediction, and safety assessment in zebrafish embryos. Molecules, 27(9), 2630. <https://doi.org/10.3390/molecules27092630>

Akermi, S., Smaoui, S., Elhadeif, K., Fourati, M., Louhichi, N., Chaari, M., Mtibaa, A. C., Baanannou, A., Masmoudi, S., Mellouli, L., 2022. *Cupressus sempervirens* essential oil: exploring the antibacterial multitarget mechanisms, chemcomputational toxicity prediction, and safety assessment in zebrafish embryos. Molecules, 27(9), 2630. <https://doi.org/10.3390/molecules27092630>

Assane, I. M., Valladão, G. M., Pilarski, F., 2021. Chemical composition, cytotoxicity and antimicrobial activity of selected plant-derived essential oils against fish pathogens. Aquac. Res., 52(2), 793-809. <https://doi.org/10.1111/are.14935>

Bazari, M. S., Masoumzadeh, M., & Jalilpour, J., 2021. Anti-parasitic effects of *Zataria multiflora* extract to eliminate the *Trichodina* parasite and its effect on blood parameters of Persian sturgeon. J. Aquac. Dev.14(4), 17-28.

Bullangpoti, V., Mujchariyakul, W., Laksanavilat, N., Junhirun, P., 2018. Acute toxicity of essential oil compounds (thymol and 1, 8-cineole) to insectivorous guppy, *Poecilia reticulata* Peters, 1859. Agric. Nat. Resour., 52(2), 190-194. <https://doi.org/10.1016/j.anres.2018.06.011>

Chitmanat, C., Tongdonmuan, K., Nunsong, W., 2005. The use of crude extracts from traditional medicinal plants to eliminate *Trichodina* sp. in tilapia (*Oreochromis niloticus*) fingerlings. Songklanakarin J. Sci. Technol, 27(Suppl 1), 359-364.

Ferraz, C. A., Pastorinho, M. R., Palmeira-de-Oliveira, A., Sousa, A. C., 2022. Ecotoxicity of plant extracts and essential oils: A review. *Environ. Pollut.*, 292, 118319. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.118319>

Gholipourkanani, H., Buller, N., Lymbery, A., 2019. *In vitro* antibacterial activity of four nano-encapsulated herbal essential oils against three bacterial fish pathogens. *Aquac. Res.*, 50(3), 871-875. <https://doi.org/10.1111/are.13959>

Hoyberghs, J., Bars, C., Ayuso, M., Van Ginneken, C., Foubert, K., Van Cruchten, S., 2021. DMSO concentrations up to 1% are safe to be used in the zebrafish embryo developmental toxicity assay. *Front. Toxicol.*, 3, 804033. | <https://doi.org/10.3389/ftox.2021.804033>

Hoyberghs, J., Bars, C., Pype, C., Foubert, K., Hernando, M. A., Van Ginneken, C., Ball, J., Van Cruchten, S., 2020. Refinement of the zebrafish embryo developmental toxicity assay. *MethodsX*, 7, 101087. <https://doi.org/10.1016/j.mex.2020.101087>

Huang, Y., Cartlidge, R., Walpitagama, M., Kaslin, J., Campana, O., Wlodkowic, D., 2018. Unsuitable use of DMSO for assessing behavioral endpoints in aquatic model species. *Sci. Total Environ.*, 615, 107-114. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.09.260>

Jerônimo, G. T., Ventura, A. S., Pádua, S. B. D., Porto, E. L., Ferreira, L. C., Ishikawa, M. M., Martins, M. L., 2020. Avaliação parasitológica em híbridos de peixes Serrasalminidae cultivados no Brasil. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, 29, e012920. <https://doi.org/10.1590/S1984-296120200084>

Kačániová, M., Klůga, A., Terentjeva, M., Kunová, S., Puchalski, C., 2018. Gram-negative microorganisms isolated from fish and their sensitivity against essential Oils. *Scient. Papers Anim. Sci. Biotechnol.*, 51(2), 115-115.

Krishnan, M., Kim, D. K., Kim, S. G., Kang, S. C., 2019. Thymol exposure mediates pro-oxidant shift by regulating Nrf2 and apoptotic events in zebrafish (*Danio rerio*) embryos. *Environ. Toxicol. Pharmacol.*, 65, 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2018.11.001>

Leira, M. H., Reghim, L. S., Ciacci, L. S., Cunha, L. T., Botelho, H. A., Braz, M. S., Dias, N. P., Melo, C. C. V., 2017. Problemas sanitários das pisciculturas

brasileiras. Pubvet, 11, 538-645. <http://dx.doi.org/10.22256/PUBVET.V11N6.538-544>

Lom, J., Dykova, I., 1992. Protozoan parasites of fishes. Elsevier Science ed. p.315. ISBN 0444894349.

Mahmoodi, A., Roomiani, L., Soltani, M., Basti, A. A., Kamali, A., Taheri, S., 2012. Chemical composition and antibacterial activity of essential oils and extracts from *Rosmarinus officinalis*, *Zataria multiflora*, *Anethum graveolens* and *Eucalyptus globulus*. Global Vet., 9(1), 73-79.

Martins, M. L., 2004. Cuidados básicos e alternativas no tratamento de enfermidades de peixes na aquicultura brasileira. Sanidade de Organismos aquáticos, 355-368.

Park, J. W., Wendt, M., Heo, G. J., 2016. Antimicrobial activity of essential oil of *Eucalyptus globulus* against fish pathogenic bacteria. Lab. Anim. Res., 32, 87-90. <https://doi.org/10.5625/lar.2016.32.2.87>

Polednik, K. M., Koch, A. C., Felzien, L. K., 2018. Effects of essential oil from *Thymus vulgaris* on viability and inflammation in zebrafish embryos. Zebrafish, 15(4), 361-371. <https://doi.org/10.1089/zeb.2017.1519>

Powers, C. N., Osier, J. L., McFeeters, R. L., Brazell, C. B., Olsen, E. L., Moriarity, D. M., Satyal, P., Setzer, W. N., 2018. Antifungal and cytotoxic activities of sixty commercially-available essential oils. Molecules, 23(7), 1549. <https://doi.org/10.3390/molecules23071549>

Roomiani, L., Soltani, M., Akhondzadeh Basti, A., Mahmoodi, A., Taheri Mirghaed, A., Yadollahi, F., 2013. Evaluation of the chemical composition and *in vitro* antimicrobial activity of *Rosmarinus officinalis*, *Zataria multiflora*, *Anethum graveolens* and *Eucalyptus globulus* against *Streptococcus iniae* the cause of zoonotic disease in farmed fish. Iran. J. Fish. Sci., 12(2), 702-716. 20.1001.1.15622916.2013.12.3.17.4

Rufli, H., Springer, T. A., 2011. Can we reduce the number of fish in the OECD acute toxicity test?. Environ. Toxicol. Chem., 30(4), 1006-1011. <https://doi.org/10.1002/etc.465>

Silva, J. F., Vieira, S. M. M., Silva, M. C. G., Santos, T. P., Andrade, A. L. C., Bastos, P. E. S., Padilha, R. M. O., Magnabosco, A. R. S., Bittencourt, T. Q. M., Melo, J. P. R., Câmara, C. A. G., Cadena, M. R. S., Cadena, P., 2023. Toxic effects of commercial and botanical pesticides on the behavioral parameters of zebrafish (*Danio rerio*). Vet. Zootec., 30. <https://doi.org/10.35172/rvz.2023.v30.1118>

SIPEAGRO - Sistema Integrado de Produtos e Estabelecimentos Agropecuários. **Ministério da Agricultura e Pecuária-MAPA**. Acessado em: 15 de agosto de 2023.

Tavares-Dias, M., 2018. Current knowledge on use of essential oils as alternative treatment against fish parasites. Aquat. Living Resour., 31, 13. <https://doi.org/10.1051/alr/2018001>

Thitinarongwate, W., Mektrirat, R., Nimlamool, W., Khonsung, P., Pikulkaew, S., Okonogi, S., Kunanusorn, P., 2021. Phytochemical and safety evaluations of *Zingiber ottensii* Valetton essential oil in zebrafish embryos and rats. Toxics, 9(5), 102. <https://doi.org/10.3390/toxics9050102>

Valladão, G. M. R., Alves, L. O., Pilarski, F., 2016. Trichodiniasis in Nile tilapia hatcheries: diagnosis, parasite: host-stage relationship and treatment. Aquaculture, 451, 444-450. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.09.030>

Yamada, Y., Chensom, S., Yonemoto, H., Nakayama, H., Zang, L., Nishimura, N., Mishima, T., Shimada, Y., 2020. Water extract of yamato tachibana (*Citrus tachibana*) induces food intake in adult and larval zebrafish. J. Med. Food, 23(1), 65-71. <https://doi.org/10.1089/jmf.2019.4484>

Yigit, N. O., Metin, S., Sabuncu, O. F., Didinen, B. I., Didinen, H., Ozmen, O., Koskan, O., 2022. Efficiency of *Ocimum basilicum* and *Eucalyptus globulus* essential oils on anesthesia and histopathology of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. J. World Aquac. Soc., 53(5), 1051-1061. <https://doi.org/10.1111/jwas.12911>

Zago, A. C., Franceschini, L., Garcia, F., Schalch, S. H. C., Gozi, K. S., Silva, R. J. D., 2014. Ectoparasites of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) in cage farming in a

hydroelectric reservoir in Brazil. Ver. Bras. Parasitol. Vet., 23, 171-178.
<https://doi.org/10.1590/S1984-29612014041>

Referências - Introdução Geral

ABD EL-GALIL, Mohamed AA; ABOELHADID, Shawky M. Trials for the control of trichodinosis and gyrodactylosis in hatchery reared *Oreochromis niloticus* fries by using garlic. **Veterinary Parasitology**, v. 185, n. 2-4, p. 57-63, 2012.

BASSON, Linda; Van As J.G., 2006. Trichodinidae and other ciliophorans (Phylum Ciliophora). In: Woo, P.T.K. (Ed.), **Fish Diseases and Disorders, Volume 1 Protozoan and Metazoan Infections**. Cab International, Oxfordshire, pp. 154–182.

BOISON, Joe O.; TURNIPSEED, Sherri B. A review of aquaculture practices and their impacts on chemical food safety from a regulatory perspective. **Journal of Aoac International**, v. 98, n. 3, p. 541-549, 2015.

BOSCOLO, Wilson Rogério; HAYASHI, Carmino; MEURER, Fábio. Digestibilidade aparente da energia e nutrientes de alimentos convencionais e alternativos para a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*, L.). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 31, p. 539-545, 2002.

CARVALHO, Edmir Daniel. Avaliação dos impactos da piscicultura em tanques-rede nas represas dos grandes tributários do alto Paraná (Tietê e Paranapanema): o pescado, a ictiofauna agregada e as condições limnológicas. **Relatório Científico (FAPESP)**. Botucatu, SP, 2006.

COSTA, Carinne Moreira de Souza et al. Efficacy of the essential oils of *Mentha piperita*, *Lippia alba* and *Zingiber officinale* to control the acanthocephalan *Neoechinorhynchus buttnerae* in *Colossoma macropomum*. **Aquaculture Reports**, v. 18, p. 100414, 2020.

COSTA, Jaqueline Custódio da et al. *Copaifera duckei* oleoresin as a novel alternative for treatment of monogenean infections in pacu *Piaractus mesopotamicus*. **Aquaculture**, v. 471, p. 72-79, 2017.

CUNHA, Jessyka Arruda da et al. The essential oil of *Hyptis mutabilis* in *Ichthyophthirius multifiliis* infection and its effect on hematological, biochemical, and immunological parameters in silver catfish, *Rhamdia quelen*. **The Journal of Parasitology**, v. 103, n. 6, p. 778-785, 2017.

DAWOOD, Mahmoud AO et al. Antiparasitic and antibacterial functionality of essential oils: An alternative approach for sustainable aquaculture. **Pathogens**, v. 10, n. 2, p. 185, 2021.

EIRAS, Jorge da Costa et al. Diversidade dos parasitas de peixes de água doce do Brasil. **Maringá: Clichetec**, p. 2380-2389, 2010.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. **The state of fisheries and aquaculture: opportunities and challenges**. Roma: FAO 2014.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. **The state of world fisheries and aquaculture: Towards blue transformation**. Roma: FAO 2022.

FITZSIMMONS, Kevin; MARTINEZ-GARCIA, Rafael; GONZALES-ALANIS, Pablo. Why tilapia is becoming the most important food fish on the planet. In: LIPING, Liu; FITZSIMMONS, Kevin. **Better science, better fish, better life: Proceedings of the ninth international symposium on tilapia in aquaculture**. Shanghai: AquaFish Collaborative Research Support Program, p. 9-18, 2011.

FU, Yao-Wu et al. Combined effects of Chinese medicine feed and ginger extract bath on co-infection of *Ichthyophthirius multifiliis* and *Dactylogyrus ctenopharyngodonid* in grass carp. **Parasitology Research**, v. 116, n. 7, 2017.

FURUYA, Wilson Massamitu et al. Exigência de fósforo disponível para juvenis de tilápia-do-nilo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 37, p. 1517-1522, 2008.

HASHIMOTO, Gabriela Sayuri de Oliveira et al. Essential oils of *Lippia sidoides* and *Mentha piperita* against monogenean parasites and their influence on the hematology of Nile tilapia. **Aquaculture**, v. 450, p. 182-186, 2016.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Sistema IBGE de Recuperação Automática – SIDRA. **Pesquisa Pecuária Municipal: Produção da aquicultura, por tipo de produto**. IBGE 2022.

KHAN, Rasul A. Parasites causing disease in wild and cultured fish in Newfoundland. **Icelandic Agricultural Sciences**, v. 22, p.29-35, 2009.

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, 2016.

MARTINS, Mauricio Laterça et al. Protozoan infections in farmed fish from Brazil: diagnosis and pathogenesis. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 24, p. 1-20, 2015.

MENESES, Juliana Oliveira et al. Efficacy of *Ocimum gratissimum* essential oil against the monogenean *Cichlidogyrus tilapia* gill parasite of Nile tilapia. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 70, p. 497-504, 2018.

NIZIO, Daniela Aparecida de Castro et al. Essential oils of *Varronia curassavica* accessions have different activity against white spot disease in freshwater fish. **Parasitology Research**, v. 117, n. 1, p. 97-105, 2018.

PEIXE BR. **Anuário 2023 Peixe BR da Piscicultura**: A força do peixe brasileiro, 127p. 2023.

QIN, Weiwei; WANG, Shiyao; XIA, Ping; TANG, Fahui; ZHAO, Yuanjun. Molecular characterization and phylogenetic analysis of *Paratrichodina africana* Kazubski and El-Tantawy, 1986 based on 18S rRNA gene data with the evolutionary hypothesis of trichodinids. **Parasitology International**, v. 94, p. 102735, 2023.

REVERTER, Miriam et al. Use of medicinal plants in aquaculture. **Diagnosis and Control of Diseases of Fish and Shellfish**, p. 223-261, 2017.

REVERTER, Miriam et al. Use of plant extracts in fish aquaculture as an alternative to chemotherapy: current status and future perspectives. **Aquaculture**, v. 433, p. 50-61, 2014.

RICO, Andreu; VAN DEN BRINK, Paul J. Probabilistic risk assessment of veterinary medicines applied to four major aquaculture species produced in Asia. **Science of the Total Environment**, v. 468, p. 630-641, 2014.

SALARO, Rodrigo Eduardo Goulart. **Atividade *in vitro* de óleos essenciais contra *Neoechinorhynchus buttnerae* de tambaqui e seus efeitos no**

hospedeiro. Dissertação (Mestrado em AQUICULTURA) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho. Centro de Aquicultura da UNESP, Jaboticabal, São Paulo (2018).

TAVARES-DIAS, Marcos. Current knowledge on use of essential oils as alternative treatment against fish parasites. **Aquatic Living Resources**, v. 31, p. 13, 2018.

TAVARES-DIAS, Marcos; MARTINS, Maurício Laterça. An overall estimation of losses caused by diseases in the Brazilian fish farms. **Journal of Parasitic Diseases**, v. 41, n. 4, p. 913-918, 2017.

TAVECHIO, Washington Luiz Gomes; GUIDELLI, Gislaine; PORTZ, Leandro. Alternativas para a prevenção e o controle de patógenos em piscicultura. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 35, n. 2, p. 335-341, 2009.

UMEDA, Naoko et al. Effects of various treatments on hatching of eggs and viability of oncomiracidia of the monogenean *Pseudodactylogyrus anguillae* and *Pseudodactylogyrus bini*. **Aquaculture**, v. 253, n. 1-4, p. 148-153, 2006.

VALENTIM, D. S. S. et al. Nanoemulsion from essential oil of *Pterodon emarginatus* (Fabaceae) shows *in vitro* efficacy against monogeneans of *Colossoma macropomum* (Pisces: Serrasalminidae). **Journal of Fish Diseases**, v. 41, n. 3, p. 443-449, 2018.

VALLADÃO, Gustavo Moraes Ramos et al. Essential oils to control ichthyophthiriasis in pacu, *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg): special emphasis on treatment with *Melaleuca alternifolia*. **Journal of Fish Diseases**, v. 39, n. 10, p. 1143-1152, 2016.

VALLADÃO, Gustavo Moraes Ramos; ALVES, Lindomar de Oliveira; PILARSKI, Fabiana. Trichodiniasis in Nile tilapia hatcheries: diagnosis, parasite: host-satge relationship and treatment. **Aquaculture**, v. 451, p. 444-450, 2016.

VALLADÃO, Gustavo Moraes Ramos; GALLANI, Sílvia Umeda; PILARSKI, Fabiana. Phytotherapy as an alternative for treating fish disease. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v. 38, n. 5, p. 417-428, 2015.

ZHU, Fei. A review on the application of herbal medicines in the disease control of aquatic animals. **Aquaculture**, v. 526, p. 735422, 2020.

ZIMMERMANN, Sergio; FITZSIMMONS, Kevin. Tilapicultura intensiva. IN: CYRINO, José Eurico Possebon et al. (Eds), **Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva**, São Paulo: TecArt, Cap.9, p. 239-266, 2004.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente estudo abordou todas as etapas para a escolha de substância e estabelecimento de um protocolo de tratamento contra tricodinídeos em tilápia-do-Nilo. Primeiramente a composição de 13 óleos essenciais (OEs) foi determinada, uma metodologia para a realização de atividade antiparasitária *in vitro* foi estabelecida e os OEs então testados em quatro doses diferentes (60,120,240 e 480 $\mu\text{L.L}^{-1}$). Os melhores resultados contra tricodinídeos foram observados nos óleos essenciais de *Citrus aurantifolia*, *Cupressus sempervirens*, *Eucalyptus globulus*, *Juniperus virginiana* e *Thymus vulgaris*. No segundo experimento estes óleos essenciais foram analisados quanto a segurança pelo teste de citotoxicidade e embriotoxicidade. No teste de citotoxicidade foi verificado que o OE de *J. virginiana* ocasionou um maior percentual de lise nos eritrócitos de tilápia-do-Nilo com 16,08% e 25,415 nas doses de 240 e 480 $\mu\text{L.L}^{-1}$ respectivamente. OE *E. globulus* (OEEG), apresentou os melhores resultados no teste de embriotoxicidade, não sendo observadas mortalidades nos embriões de zebrafish expostos a doses até 200 mg.L^{-1} , sendo apenas observadas alterações em 32% das larvas oriundas desta exposição. Por apresentar efetividade contra tricodinídeos no teste *in vitro* e melhor resultado nos testes de citotoxicidade e embriotoxicidade, OEEG foi utilizado no teste de eficácia *in vivo* em que juvenis de tilápia-do-Nilo naturalmente infestados com tricodinídeos foram tratados com este OE nas doses de 40,60 e 80 mg.L^{-1} . Nesta última etapa, valor de eficácia de 73,9% foi verificada na maior dose de exposição (80 mg.L^{-1}). Apesar dos resultados promissores, a efetividade no controle dos tricodinídeos verificada não é suficiente para a utilização como tratamento em ambientes de cultivo devido as características de reprodução deste grupo de parasitos. Dessa forma, como perspectivas futuras, deverão ser analisados individualmente os compostos dos óleos essenciais com melhores resultados a fim de elucidar o componente responsável pela resposta do OE, bem como estabelecer condições em que a efetividade no controle dos parasitos seja melhorada, como ajustes no tempo e dose utilizada.