

UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO - UFMA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E AMBIENTAIS - CCAA
CURSO: ZOOTECNIA
MONOGRAFIA DE CONCLUSÃO DE CURSO

JEFFERSON FRANKLYN VIEIRA DE SOUZA

ATIVIDADE ANESTÉSICA DO ÓLEO ESSENCIAL DE
***Cymbopogon flexuosus* EM ALEVINOS DE TAMBATINGA.**

CHAPADINHA-MA

JULHO DE 2017

JEFFERSON FRANKLYN VIEIRA DE SOUZA

ATIVIDADE ANESTÉSICA DO ÓLEO ESSENCIAL *Cymbopogon flexuosus* EM ALEVINOS DE TAMBATINGA.

Trabalho apresentado ao curso de Zootecnia da Universidade Federal do Maranhão como requisito indispensável para a graduação em Zootecnia.

ALUNO: JEFFERSON FRANKLYN VIEIRA DE SOUZA

ORIENTADOR: Profa. Dra. JANE MELLO LOPES

CHAPADINHA-MA

JULHO DE 2017

VIEIRA DE SOUZA, JEFFERSON FRANKLYN.

ATIVIDADE ANESTÉSICA DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Cymbopogon flexuosus* EM ALEVINOS DE TAMBATINGA / JEFFERSON FRANKLYN VIEIRA DE SOUZA. - 2017.

40 f.

Orientador(a): JANE MELLO LOPES.

Monografia (Graduação) - Curso de Zootecnia, Universidade Federal do Maranhão, UFMA, CHAPADINHA/MA, 2017.

1. Anestésico. 2. Capim limão. 3. Frequência ventilatória.
4. Produto natural. I. MELLO LOPES, JANE.

II. Título.

JEFFERSON FRANKLYN VIEIRA DE SOUZA

**ATIVIDADE ANESTÉSICA DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Cymbopogon flexuosus*
EM ALEVINOS DE TAMBATINGA.**

Trabalho apresentado ao curso de Zootecnia da Universidade Federal do Maranhão como requisito indispensável para a graduação em Zootecnia.

Aprovado em: 14/07/17

Banca Examinadora

Profa Dra. Jane Mello Lopes
(Orientador)

Prof. Dr. Sinval Garcia Pereira
(Membro Interno/UFMA)

Dra. Dáphinne Cardoso Nagib do Nascimento
(Membro Externo)

CHAPADINHA-MA
JULHO DE 2017

“Não devemos nos questionar porque algumas coisas nos acontecem e sim o que podemos fazer com o tempo que nos é dado ”

O Senhor dos Anéis

**Dedico principalmente a minha Mãe
que não mediu esforços para que eu
chegasse até aqui.**

AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar a Deus por me proporcionar estar aqui hoje realizando um sonho. Agradeço à Universidade Federal do Maranhão por concretizar esse sonho de concluir o ensino superior.

No mais agradeço principalmente a minha mãe Francis-Lis Vieira de Souza que fez o possível e o impossível para que eu chegasse até aqui, me incentivando e motivando a cada dia que passava e no momento mais importante, que foi quando quis desistir de tudo. Junto com minha vó Matilde Maria de Carvalho Vieira e minha namorada Mikaelly Cristina que nunca deixaram que eu desistisse me apoiando de forma incondicional e sempre torcendo por mim.

Agradeço a todos do Grupo Pescado que participaram de forma ativa desse projeto de forma direta ou indireta.

Os mais sinceros agradecimentos vão para minha orientadora Dr. Jane Melo Lopes que muito contribuiu para que tudo se tornasse realidade. Que fez com que eu buscasse cada dia mais conhecimento não somente como orientadora e também como professora no decorrer do curso.

Agradeço a Pesquisadora Mestre Carine de Freitas Souza que veio a somar com sua experiência e ensinamentos que foram cruciais nesse projeto, compartilhando conhecimentos que serão levados para a vida toda. Agradeço também ao Professor Doutor Jefferson Costa Siqueira pela ajuda nas análises estatísticas e pelos ensinamentos ao decorrer do curso e ao Professor Dr. Claudener Souza Teixeira pela ajuda incondicional.

No mais agradeço a todos que passavam pela minha vida nesse período acadêmico na cidade de Chapadinha, como os amigos que fiz, os colegas de classe e de outros cursos e aos professores que se não fosse por todos os seus ensinamentos isso tudo não seria possível. Agradeço também aos amigos Tales Carvalho, Luis Neto, Fernando Vieira, Wdson Barbosa, João Furtado, Gabriel Feitoza , Augusto Esposito (Foguinho) e André Felipe que também ajudaram nessa caminhada ou de forma direta ou indireta.

Obrigado a todos!

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 REVISÃO DE LITERATURA	15
2.1 Óleos essenciais com potencial para anestesia	15
2.2 Anestésicos e analgésicos usados na piscicultura	15
2.3 Capim Limão (<i>Cymbopogon flexuosus</i>)	17
2.4 Tambatinga	18
3 MATERIAL E MÉTODOS	19
3.1 Local e animais	19
3.2 Obtenção do óleo essencial	20
3.3 Experimento I	20
3.4 Experimento II	21
3.5 Análise Estatística	22
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	23
4.1 Indução à anestesia e recuperação	23
4.2 Análise da frequência ventilatória e da qualidade da água	25
5 CONCLUSÃO	28
REFERÊNCIAS	29

RESUMO

Objetivou-se verificar o óleo essencial de *Cymbopogon flexuosus* para indução à sedação, anestesia e recuperação de alevinos de tambatinga (*Colossoma macropomum* x *Piaractus brachypomum*). Foram dois experimentos diferentes utilizando oito exemplares para cada um, sendo utilizados um peixe de cada vez (n=8). No primeiro experimento de indução à anestesia e recuperação foram testadas as concentrações de 15, 25, 50, 100, 150 e 300 $\mu\text{L} / \text{L}^{-1}$ sobre o tempo requerido a indução a sedação, a anestesia e a recuperação do efeito anestésico. No segundo experimento da análise da frequência ventilatória e da qualidade da água os outros animais foram expostos as concentrações de 5 e 10 $\mu\text{L} / \text{L}^{-1}$ além do controle (água e etanol) sendo e a frequência ventilatória dos animais determinada. Os tempos de sedação foram em média de 10 minutos em todas as concentrações. A concentração de 100 $\mu\text{L} / \text{L}^{-1}$ foi a que apresentou a melhor resposta em relação ao tempo de indução a anestesia e recuperação. Em relação a melhor dosagem para os procedimentos de manejo ou transporte recomenda-se a concentração de até 10 $\mu\text{L} / \text{L}^{-1}$ porque após 6 horas de exposição a frequência ventilatória apresentou nível normais.

Palavras-chave: anestésico, capim limão, frequência ventilatória, produto natural

ABSTRACT

There checked the essential oil of *Cymbopogon flexuosus* aimed to check for induction to the sedation, anesthesia and recuperation of live fry of tambatinga (*Colossoma macropomum* x *Piaractus brachypomum*). There were two different experiments using eight examples for each one, being used a fish of every time (n=8). In the first induction experiment to the anesthesia and recuperation there were tested the concentrations of 15, 25, 50, 100, 150 and 300 $\mu\text{L} / \text{L}^{-1}$ on the time applied for the induction to sedation, the anesthesia and the recuperation of the anesthetic effect. In the second experiment of the analysis of the ventilatory frequency and of the quality of the water other animals were exposed the concentrations of 5 and 10 $\mu\text{L} / \text{L}^{-1}$ besides the control (water and etanol) being and the ventilatory frequency of the animals determined. The sedation times were on average of 10 minutes in all the concentrations. The concentration of 100 $\mu\text{L} / \text{L}^{-1}$ was to what he presented the best stake regarding the induction time to anesthesia and recuperation. Regarding better dosage for proceedings of handling and transport the concentration is even recommended of 10 $\mu\text{L} / \text{L}^{-1}$ because after 6 hours of exhibition the ventilatory frequency presented level normal.

Keywords: anesthetic, grass lemon, ventilatory frequency, natural product

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Exemplar de <i>Cymbopogon flexuosus</i> ._____	18
Figura 2. Exemplar de Tambatinga (<i>Colossoma macropomum x Piaractus brachypomum</i>)._____	19
Figura 3. Tempo requerido para indução e recuperação da anestesia por óleo essencial de <i>Cymbopogon flexuosus</i> (OECF) em alevinos de tambatinga (<i>Colossoma macropomum x Piaractus brachypomum</i>)._____	23

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Estagio de anestesia usado para verificar a eficácia do OEFCF em alevinos de tambatinga. _____21

Tabela 2. Avaliação da frequência ventilatória de tambatinga expostas a diferentes concentrações de OEFCF em função do tempo de exposição (h). _____26

ABREVIACÕES, SIGLAS E UNIDADES

OE – Óleo essencial

OEFC – Óleo essencial de *Cymbopogon Flexuosus*

E1 – Estágio 1

E2 – Estágio 2

E3 – Estágio 3

E4 – Estágio 4

REC - Recuperação

µL – Micro Litro

UFMA – Universidade Federal do Maranhão

CEUA – Comissão de Ética no Uso de Animais

CONCEA – Conselho de Experimentação Animal

LABEVE – Laboratório de Extrativos Vegetais

UFMS – Universidade de Santa Maria

FV – Frequência Ventilatória

L - Litro

1. INTRODUÇÃO

A piscicultura é considerada uma atividade de grande importância para o desenvolvimento socioeconômico de todas as regiões do Brasil, devido à existência de recursos naturais em abundância (peixes e recursos hídricos) com grande capacidade de produção que atenda aos mercados local, regional, nacional e até mesmo internacional. Além disso a piscicultura é uma atividade de expressão econômica mundial sendo uma alternativa promissora na produção de alimentos ricos em proteína animal e em decorrência da crescente demanda de pescado provocada pela queda dos estoques naturais (LIMA, 2005; BRASIL, 2015).

A produção de peixes requer uma série de práticas de manejo (captura, biometria, análises patológicas, manejo reprodutivo e transporte) as quais provocam injúrias aos animais e estão entre os principais fatores estressantes para peixes criados em cativeiro (COOKE et al.,2004; SALBEGO, et al 2014). O uso de sedativos durante estas práticas pode diminuir esse estresse (SNEDDON, 2012; ZAHL, SAMUELSEN, KIESSLINH, 2012), favorecendo o bem-estar animal (CHANDROO et al., 2004).

Neste contexto, sedativos e ou anestésicos são produtos importantes utilizados para facilitar o manejo e de tal forma reduzir o estresse em animais terrestres e aquáticos (SMALL, 2003 e 2004), sendo caracterizados como agentes fármacos que são capazes de conduzir os animais a um estado de perda parcial ou completa da sua percepção a qualquer estímulo externo (IWAMA e ACKERMAN, 1994).

A utilização de anestésicos em peixes não é recente (McFARLAND, 1959; SCHOETTGER; JULIN, 1967; SEIGNEUR, 1984) e vem sendo investigada com o propósito de facilitar as práticas de manejo e procedimentos veterinários, tornando-os menos invasivos e conseqüentemente com menores danos fisiológicos aos animais (SEGNER et al., 2012). Em baixas concentrações os anestésicos são utilizados com a finalidade de sedação para reduzir a atividade e a taxa metabólica, enquanto que as concentrações mais elevadas são rotineiramente utilizadas durante procedimentos que são considerados estressantes ou dolorosos para os peixes (KIESSLING et al., 2009).

Normalmente, os anestésicos podem causar a supressão ou eliminação de diversas respostas ao estresse, o que pode facilitar para o animal a manutenção de sua homeostase mesmo quando é exposto a um manejo intenso (MARTÍNEZ-PORCHAS et al., 2009).

No entanto dependendo da concentração ou do tempo de exposição, alguns desses anestésicos podem causar ou aumentar o estresse do animal (BARBOSA et al., 2007; KIESSLING et al., 2009).

O processo de sedação tem sido usado principalmente nas práticas de transporte. Já foi reportado diversos tipos de anestésicos, como o sulfato de quinaldina, a tricaína metano sulfonato (MS 222), a benzocaína e o fenoxietanol, produtos químicos usados extensivamente, mas que podem causar perda de muco, irritação das brânquias e danos na córnea (INOUE et al. 2003). Entre os naturais, menos residuais ou agressivos, destacam-se o eugenol (CUNHA, et al 2010); óleo essencial de *Lippia alba* (CUNHA, et al 2010; BECKER, et al 2016), *Nectandra megapotamica* (TONDOLO et al. 2013), *Aloysia triphilla* (ZEPPENFELD et al 2014), *Hesperozygis ringens* (TONI et al, 2015), *Ocimum basilicum* e *Cymbopogon flexuosus* (LIMMA NETTO et al. 2016). Tais óleos essenciais derivados de plantas caracterizam-se como uma alternativa viável aos anestésicos sintéticos utilizados em peixes, pois são geralmente de baixo custo e fácil obtenção (VIDAL et al., 2006; CUNHA et al., 2010; SILVA et al., 2013).

Diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade anestésica do óleo essencial de capim limão em alevinos de tambatinga (*Colossoma macropomum* x *Piaractus brachypomum*), assim como avaliar a qualidade da água e observar a frequência ventilatória dos animais quando expostos por 6 horas em diferentes concentrações de óleo essencial de (*Cymbopogon flexuosus*).

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Óleos essenciais com potencial para anestesia

Há um aumento na demanda pelo uso de produtos anestésicos de baixo custo e de fácil aquisição que sejam seguros tanto ao manipulador quanto ao meio ambiente. Alguns OE derivados de plantas têm se mostrado uma alternativa viável para reduzir o estresse em peixes durante procedimentos de captura e manuseio (SILVA et al., 2013).

Os OE são misturas complexas de substâncias voláteis lipofílicas, geralmente odoríferas e líquidas contidas em vários órgãos das plantas (TAVARES, MOMENTÉ e NASCIMENTO, 2011). A qualidade do óleo é afetada por vários fatores, alguns ambientais, como por exemplo o clima, o solo, as regiões geográficas, a duração do dia e da noite, o local de onde foi extraído (caules, flores, folhas, sementes, raízes), a fase de desenvolvimento da planta na época da colheita, condição de secagem, tempo de armazenamento, entre outros fatores (KAMADA et al., 1999; CASTRO et al., 2004; LUZ et al., 2009; COUIC-MARINIER e LOBSTEIN, 2013; SOUZA et al 2017).

A concentração necessária do OE para indução à anestesia varia de acordo com a espécie de peixe utilizada e, portanto, pode estar relacionada à tolerância ao OE e ao seu tempo de recuperação (SUMMERFELT e SMITH, 1990). Segundo PARK et al. (2008), quanto maior for a concentração utilizada, menor será o tempo para induzir à anestesia, podendo conter uma relação inversa entre o tempo e a recuperação. Sendo que o tempo de indução ao estado de anestesia também pode ter como influencia a temperatura da água (WALSH e PEASE, 2002) e o tamanho do peixe (WOODY et al., 2002).

2.2 Anestésicos e analgésicos usados na piscicultura

A piscicultura tem como objetivo alcançar alta produtividade com um mínimo de despesa, para obter o máximo de lucro possível. Fatores estressantes, como por exemplo, a captura desordenada, condições de transporte, manutenção e manejo pós-captura inadequadas são as principais causas de perdas de lucro na piscicultura, pois podem afetar o metabolismo e conseqüentemente o crescimento e desenvolvimento dos peixes. Nesse contexto, a anestesia pode ser uma importante ferramenta no manejo intensivo, minimizando os efeitos do estresse e evitando injúrias físicas aos animais utilizados (ROSS e ROSS, 2008).

A anestesia é um processo reversível que provoca perda de sensibilidade de todo ou em parte do corpo e que tem como resultado a depressão da função nervosa, causada por um fármaco (WILLIAMS e WILKINS COMPANY, 1982). Entretanto, apesar da anestesia minimizar o impacto de agentes estressantes, é de suma importância determinar concentrações ótimas destes fármacos utilizados com propriedades anestésicas para poder evitar os efeitos negativos dessa prática, podendo ser evitado a sua utilização em grandes quantidades pois pode promover alterações metabólicas identificadas somente algumas horas após sua exposição, ou ainda a morte dos animais (SUMMERFELT e SMITH, 1990; PARK et al., 2008).

De modo geral, a escolha de um anestésico para uso em piscicultura irá depender da sua eficácia tanto na indução quanto recuperação dos animais (MARKING e MEYER, 1985; ROSS e ROSS, 2008). Aspectos econômicos, considerações legais, características de disponibilidade no mercado, além de possíveis efeitos colaterais aos peixes, aos humanos e ao ambiente devem ser avaliados como principais critérios para a escolha do produto (MARKING e MEYER, 1985).

Os anestésicos podem ser usados de forma injetável nos peixes, embora a maioria seja administrada na água (BOWSER, 2001; ROUBACH e GOMES, 2001). Quando administrado na água, o anestésico entra através das brânquias e da pele no sistema circulatório do peixe, bloqueando algumas ações reflexas (SUMMERFELT e SMITH, 1990). Segundo ROSS e ROSS (2008), a solução da droga é absorvida pelas brânquias dos peixes, suas moléculas se difundem rapidamente para o espaço sanguíneo na lamela secundária, que drena para o sangue da artéria eferente, sendo esta uma rota muito curta para o sistema nervoso central.

Foi reportado por ROUBACH e GOMES (2001) e COYLE et al. (2004), que a maioria dos anestésicos pode produzir vários níveis ou estágios de anestesia nos peixes. A avaliação desses diferentes estágios de anestesia para peixes é bastante subjetiva, sendo que em muitos casos é difícil diferenciar o momento da passagem de um estágio para outro (GILDERHUS e MARKING, 1987). Essa depende de uma série de fatores, como por exemplo, a habilidade de quem está manipulando e dos procedimentos que serão realizados nos peixes (BURKA et al., 1997).

2.3 Capim limão (*Cymbopogon flexuosus*)

O Capim Limão (*Cymbopogon flexuosus*) (Figura 1) é pertencente à família Poaceae, esse gênero (*Cymbopogon*) apresenta aproximadamente 180 espécies com variedades nativas de regiões tropicais do continente Europeu e da Oceania. São perenes e não ultrapassam 1 metro, com folhas longas e estreitas que contem pelos glandulares. Algumas dessas espécies aromáticas são valorizadas comercialmente por serem fonte da extração de OE como: *C. martinii*, *C. citratus* e *C. flexuosus*, utilizados principalmente na indústria de perfumes, cosméticos e farmacêuticos (CARLSON et al. 2001, SCHANEBERG e KHAN 2002, KHANUJA et al. 2005, RAUBER et al. 2005, AKHILA 2010, DESAI e PARIKH 2012).

O *Cymbopogon flexuosus* também é popularmente conhecido como lemon grass ou capim limão, nativa da Índia, mas também é cultivada em várias partes do mundo para a obtenção do seu OE. Na medicina popular esta planta é usada como anti-hipertensivo, anti-inflamatório e bastante útil no tratamento da irritabilidade gástrica. Pesquisas recentes mostraram atividade anticâncer e atividade repelente contra mosquitos (JAYASINHA 1999, NATHA et al. 2002, EVANS 2008, CABALLERO-GALLARDO et al. 2012, DESAI e PARIKH 2012) e atividade sedativa e anestésica em *Rhamdia quelen* (DOS SANTOS et al, 2017).

O OECF apresenta como principal componente o citral (3,7-dimetiloctano-2,6-dienal). Por causa de seu odor de limão, o citral é amplamente utilizado como um aromatizante de alimentos, bebidas, perfumes e produtos de higiene pessoal. Além disso o citral apresenta atividade farmacológica importante como sedativo, antidepressivo, antiviral, antifúngico e antitumoral (CARLSON et al. 2001, SCHANEBERG e KHAN 2002, FILHO et al. 2003, TRASARTI et al. 2004, RAUBER et al. 2005, AKHILA 2010, DESAI e PARIKH 2012).



Figura 1. Exemplar de *Cymbopogon flexuosus*. Fonte: www.hydroponics.eu

2.4 Tambatinga

A tambatinga (*Colossoma macropomum* x *Piaractus brachypomum*) é um híbrido resultante do cruzamento entre a fêmea de tambaqui e o macho de pirapitinga (GUERRA et al., 1992). Apresenta cor clara, com a ponta das nadadeiras caudal e anal de cor avermelhada, sendo essa coloração herdada da pirapitinga. O animal tem hábito alimentar onívoro, especialmente frugívoro-herbívoro e pode alcançar até 80 cm de comprimento e mais de 15 kg de peso corporal (CRUZ et al. 2006).

Possui rastros branquiais mais desenvolvidos que outras espécies como a pirapitinga, o que possibilita uma maior eficiência no processo de filtragem do plâncton (GUERRA et al., 1992). Dessa forma, esse híbrido pode apresentar características de suas espécies parentais, tendo uma vantagem de maior resistência às doenças adquiridas da pirapitinga e o crescimento adquiridos do tambaqui (HASHIMOTO et al., 2012).

Com crescimento superior e produtividade (HASHIMOTO et al., 2012) a tambatinga apresenta melhor conversão alimentar quando comparado com as suas espécies parentais (PAULA et al., 2009a e 2009b). De acordo com SILVA-ACUÑA e GUEVARA (2002), esse híbrido tem uma grande facilidade de atingir o seu peso comercial período curtos de tempo e com níveis baixos de proteína bruta em sua dieta, o que pode representar uma economia com custo total de ração.

A pirapitinga pode chegar a atingir seu peso comercial entre 180 e 365 dias, com uma densidade de aproximadamente 1,5 a 3,0 peixes/m² em viveiros ou tanques, podendo chegar à produtividade de 12 a 30 toneladas por hectare (VÁSQUEZ-TORRES, 2005). De acordo com Granado (2000), avaliando a pirapitinga submetida a diferentes densidades de estocagem em tanques-rede, em 330 dias animais já apresentavam peso comercial e produtividade em torno de 12,8 kg/m³.

3 MATERIAL E MÉTODOS

Foram realizados dois experimentos diferentes, no primeiro experimento para avaliar o tempo de indução e recuperação à anestesia durante 30 minutos de exposição ao OEFC e no segundo experimento, foi avaliado a qualidade da água e a frequência ventilatória dos animais após 6 horas de exposição ao OEFC.

A pesquisa foi aprovada pela Comissão de Ética no uso de Animais (CEUA-UFMA) da Universidade Federal do Maranhão. De acordo com os preceitos da lei n° 11794 de 8 de outubro de 2008, do decreto n°6899 de 15 de junho de 2009 e com normas editadas pelo Conselho de Experimentação Animal (CONCEA) em Anexo A.

3.1 Local e animais

Os experimentos foram conduzidos no setor/laboratório de piscicultura do Centro de Ciências Agrárias e Ambientais da Universidade Federal do Maranhão, campus de Chapadinha.

Foram utilizados alevinos de tambatinga (Figura 1) adquiridos num estabelecimento comercial (Piscicultura Brasil) no município de Itapecuru/MA. No laboratório os animais foram mantidos por 10 dias em caixas de 500L com aeração constante, para adaptação antes dos experimentos. Durante este período receberam alimentação (ração comercial) duas vezes ao dia, 24 horas antes do início dos experimentos tiveram a alimentação cessada e durante os experimentos os mesmos não receberam alimento.



Figura 2. Exemplar de Tambatinga (*Colossoma macropomum* x *Piaractus brachypomum*). Foto do autor

3.2 Obtenção do Óleo Essencial

O OE de *C. flexuosus* utilizado neste estudo foi doado pelo Laboratório de Extrativos Vegetais (LABEVE) da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM). O óleo foi obtido de folhas frescas por hidrodestilação durante 2 horas, segundo a European Pharmacopoeia (European Directorate for the Quality of Medicines 2007), e estocado em garrafas âmbaricas em $-4\text{ }^{\circ}\text{C}$ até a sua utilização. Os componentes principais do EO de capim limão identificados foram α -citral (48.90%) e β -citral (37.47%).

3.3 Experimento I

Indução a anestesia e recuperação

Na avaliação do tempo de indução e recuperação á anestesia foram utilizados oito (8) aquários contendo 1L de água, continuamente aerada. Os animais (n-8) foram expostos a diferentes concentrações do óleo essencial do capim limão (15; 25; 50; 100; 150; $300\mu\text{L} / \text{L}^{-1}$) previamente diluído em etanol (1:10). O tempo máximo de exposição ao óleo foi de 30 minutos e o peso médio dos animais neste experimento foi peso de $6,20\pm 0,24\text{g}$ e comprimento de $7,11\pm 0,10\text{cm}$. Foi utilizado apenas um peixe por aquário, e cada animal foi utilizado apenas uma vez.

A determinação dos estágios anestésicos foi realizada pela ação de estímulos externos e avaliação comportamental dos peixes. Durante os diferentes estágios foi observado a leve perda de resposta a estímulos externos, a perda total de resposta a estímulos externos, a resposta a estímulos táteis, o nado errático e a ausência de movimentos. O estágio de indução da anestesia (Tabela 2) avaliado neste estudo foi adaptado de Small (2003). Sendo que os estímulos externos utilizados foram o toque nos animais com bastão de vidro sem usar de força bruta, além de outros estímulos como o toque repetido na parte de cima do aquário ou o toque sem o auxílio de bastão na cauda do animal.

Tabela 1. Estágio de anestesia usado para verificar a eficácia do OE de capim limão em alevinos de tambatinga.

Estágio	Atividade/Resposta
E1	Agitação constante, movimentos semelhantes ao “fuçar”
E2	Sedação. Pouca reação a estímulos externos.
E3	Perda parcial do equilíbrio, natação errática.
E4	Anestesia: Total perda de equilíbrio. Sem locomoção.

(Adaptado de Small, 2003).

Após indução ao anestésico (tempo máximo 30 min), os alevinos foram transferidos para aquários (1L) livres do OE, para observação do tempo de recuperação. Os animais considerados recuperados apresentaram natação normal e resposta de reação a estímulos externos. O tempo máximo nestes aquários foi de 30 minutos. Após a recuperação os animais foram agrupados de acordo com o protocolo anestésico e transferidos para caixas de 250L, onde foram observados por 48h.

3.4 Experimento II

Avaliação da Frequência ventilatória e Qualidade da água

O segundo experimento foi realizado com outros animais (n=8) para avaliar a frequência ventilatória (FV) quando expostos ao OE de capim limão. A frequência ventilatória das tambatingas foi quantificada pela contagem visual dos movimentos operculares a cada 20 segundos sucessivos (total 1min), através de um cronometro (Adaptado de ALVARENGA e VOLPATO, 1995) nos tempos 0,1,2,4 e 6 horas após a exposição ao OEFCF.

As concentrações utilizadas neste experimento foram 5 μ L e 10 μ L do OE porque nestas concentrações os peixes permaneceram nos estágios E1 e não atingiram a sedação caracterizados pelo decréscimo das reações ao estímulo externo. Além das duas concentrações testadas os peixes foram expostos a dois controles (aquários contendo somente água e outros com adição de Etanol). A concentração do etanol utilizada foi de 900 μ L e baseada na diluição da maior concentração do OE testado (1:10). Foram utilizados 8 aquários/tratamentos, contendo 1L de água e um peixe por aquário. Assim como descrito anteriormente, foi utilizado um peixe de cada vez. O peso médio dos animais neste experimento foi peso de $5,43 \pm 0,26$ g e comprimento de $6,54 \pm 0,14$ cm.

Durante os experimentos foram avaliados a temperatura, o oxigênio dissolvido, pH e a amônia total. A temperatura e os níveis de oxigênio dissolvido foram avaliados com auxílio de um oxímetro digital (HANNA, T160), pH da água com peagâmetro digital (DMPH-2 pH) e amônia por colorimetria de acordo com Eaton et al (2005).

3.5 Análise estatística

Os dados foram expressados como média \pm erro padrão e submetidos ao teste de Levene para verificar a homogeneidade das variâncias. A atividade anestésica (tempo de sedação, anestesia e recuperação) e a frequência ventilatória dos animais após 6 horas de exposição ao óleo foram determinadas pela análise de variância (ANOVA), e quando houve diferenças significativas, aplicou-se o teste de comparação de médias Duncan e Tukey respectivamente. A análise estatística foi feita através do programa InfoStat. O nível de significância foi de 95% ($P < 0,005$)

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Indução a Anestesia e Recuperação

Não houve mortalidade durante os experimentos após as 48 horas de observação. O uso de etanol ($900\mu\text{L}^{-1}$) no grupo controle não induziu a sedação nem anestésias nos animais. O OECECF foi efetivo como sedativo para tambatinga em todas as concentrações testadas (primeiro experimento), contudo a atividade anestésica foi observada nas concentrações de 25 a $300\mu\text{L} / \text{L}^{-1}$.

Durante a indução anestésica os peixes apresentaram comportamento diferente do normal quando em contato com o óleo: ficaram hiperativos com natação agitada e se batendo contra a parede do aquário, aumento da frequência ventilatória (movimento acentuado de abertura dos opérculos), natação rápida nos primeiros segundos, movimentos lentos após alguns minutos, perda parcial ou total de equilíbrio com o ventre voltado para o lado, como se o animal deitasse, e reação ou não a estímulos externos. Os dados referentes aos tempos que cada animal levou a atingir cada estágio (de sedação, indução anestésica e de recuperação) quando expostos a diferentes concentrações do OECECF são apresentados na Figura 3.

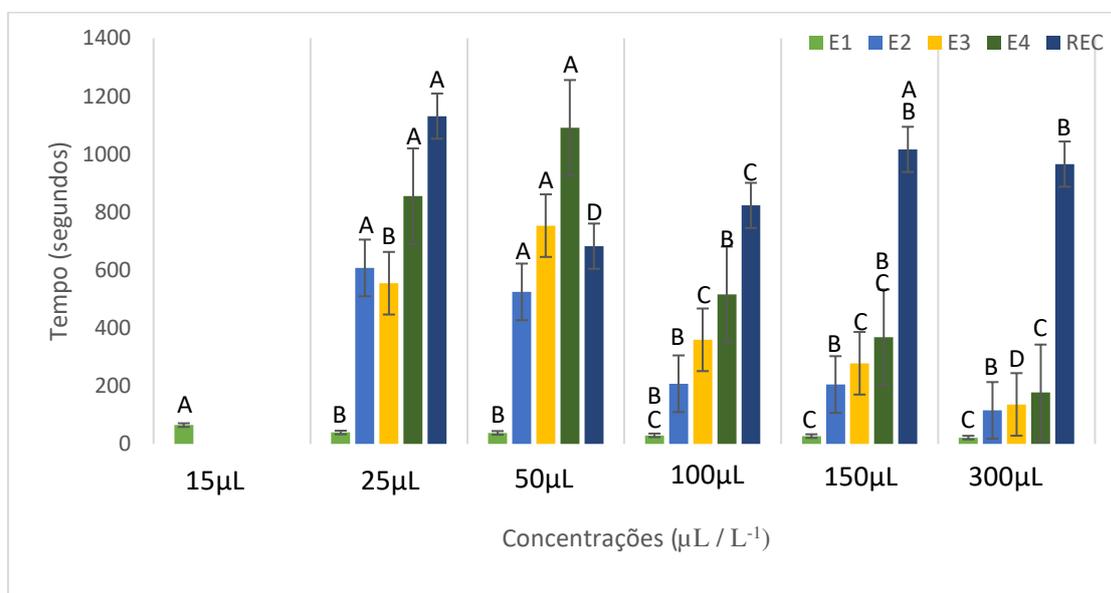


Figura 3. Tempo requerido (segundos) para indução e recuperação da anestesia em tambatingas expostas ao óleo essencial de *Cymbopogon flexuosus*. Dados são médias \pm erro padrão ($n=8$). Diferentes letras indicam diferença significativa entre os tratamentos pelo teste Duncan ($P<0,05$). E1- E2 - E3 e E4 representam os diferentes estágios observados.

A concentração de $15\mu\text{L} / \text{L}^{-1}$ do OEFC causou apenas uma leve sedação nos animais (E1) mas não apresentou efeito anestésico durante os 30 minutos avaliados. Neste grupo o tempo de recuperação não foi registrado. No entanto, nas maiores concentrações do OE de 25 a $300\mu\text{L} / \text{L}^{-1}$ testado foi observado atividade anestésica (E4) em tambatinga, estagio caracterizado pela perda total do equilíbrio e da capacidade de não restabelecer a posição normal de nado.

As tambatingas expostas as concentrações de 100, 150 e $300\mu\text{L} / \text{L}^{-1}$ apresentaram menores tempos de indução a anestesia em relação as concentrações mais baixas. Todas estas concentrações induziram anestesia em menos de 10 minutos. Nas concentrações de 150 e $300\mu\text{L} / \text{L}^{-1}$ o tempo de indução foi menor que 6 minutos, sendo o tempo máximo recomendado para que o óleo seja considerado ideal como anestésico (ROSS e ROSS, 2008; BAGHERI e IMANPOOR, 2011).

Correlações negativas observadas entre concentrações e tempo de indução neste estudo, também foi observado por outros autores com outras espécies (BECKER et al. (2013), TONDOLO et al (2013); HAJEK, (2011); DOS SANTOS et al, 2017).

No estudo realizado por Dos Santos et. al (2017) testando o óleo de *C. flexuosus* como anestésicos para Jundiá (*Rhamdia quelen*) foi observado que o mesmo óleo induziu a sedação eficaz em $25\mu\text{L} / \text{L}^{-1}$ mas a anestesia só foi efetiva em 150 e $300\mu\text{L} / \text{L}^{-1}$. No entanto, no presente experimento a concentração de $25\mu\text{L} / \text{L}^{-1}$ também induziu à anestesia, contudo num tempo relativamente alto, após 13 minutos.

Trabalhando com tambacu e o mesmo óleo essencial *C. flexuosus*, Limma-Netto et al (2016) observaram que as concentrações de $100\mu\text{L} / \text{L}^{-1}$, $200\mu\text{L} / \text{L}^{-1}$ e $300\mu\text{L} / \text{L}^{-1}$ induziram à anestesia com tempos mais baixos em relação aos observados neste estudo e as concentrações de $10\mu\text{L} / \text{L}^{-1}$, $25\mu\text{L} / \text{L}^{-1}$ e $50\mu\text{L} / \text{L}^{-1}$ induziram à sedação. Os autores recomendam o uso da concentração de $300\mu\text{L} / \text{L}^{-1}$ para aquela espécie.

Os tempos de recuperação a anestesia observados nos alevinos de tambatinga ficaram acima de dez minutos. Este tempo é acima do recomendado por outros autores (ROSS e ROSS 1999; NEIFFER e STAMPER 2009). A maioria dos peixes que são submetidos à anestesia apresentam o tempo ideal de recuperação de até 5 minutos e de acordo com Neiffer e Stamper (2009) a recuperação maior que 10 minutos pode indicar uma dose excessiva ou um animal comprometido fisiologicamente.

A utilização de anestésico como uma ferramenta na piscicultura se torna cada vez mais indispensável, pois facilita o manejo, permitindo a manipulação segura e precisa dos animais (WOODY et al. 2002).

A sedação é um primeiro estágio da anestesia na qual a percepção sensorial é reduzida e não há perda do equilíbrio. Ocorre uma perda comum da percepção sensorial e perda do equilíbrio em animais anestesiados (ROSS e ROSS 2008). O estágio de sedação é recomendado para transporte porque reduz o metabolismo do peixe o que acalma o animal (CUNHA et al., 2010; 2011), reduz a excreção da amônia metabólica e reduzi os danos físicos causados pelo contato entre o peixe e a embalagem de transporte.

De acordo com Ostrensky et al. (2000) e Gomes et al. (2001), o tempo de recuperação do peixe pode ser influenciado pelo seu tempo de exposição ao fármaco e pela temperatura da água. Em todas as concentrações testadas o tempo máximo de exposição foi o mesmo, de 30 minutos e a temperatura em média de 25°C.

Embora todas as concentrações entre 25 e 300 μL^{-1} de EOFC tenham sido eficazes como agente sedativo, do ponto de vista econômico (pois os óleos essenciais tendem a ter um custo elevado) a utilização da dose correta (evitando o uso de altas concentrações o que pode causar alterações metabólicas nos animais) do anestésico é fundamental para evitar desperdícios do agente anestésico ou a morte dos peixes pelo excesso de exposição ao produto (ROUBACH e GOMES, 2001) e em implicações legais (IWAMA e ACKERMAN, 1994).

4.2 Análise da frequência ventilatória e da qualidade da água

A qualidade da água ao final de seis horas de exposição ao EOFC não apresentou diferenças significativas ($P>0,005$) entre os diversos grupos testados. A temperatura da água se manteve em 25°C, o pH permaneceu na faixa de 6,4-6,7, o oxigênio dissolvido ficou entre 7,28 e 7,54mg/L e a amônia total ficou em média 0,095. Onde esses valores são adequados para a criação das tambatingas (PAULA et al 2009).

Avaliação da frequência ventilatória em função das concentrações e do tempo de exposição estão apresentados na Tabela 2. Onde o EOFC alterou a frequência ventilatória da tambatinga nas duas concentrações testadas.

Tabela 2. Avaliação da frequência ventilatória de tambatinga expostas a diferentes concentrações de OEFC em função do tempo de exposição (h).

Tempo (h)	Concentração $\mu\text{L} / \text{L}^{-1}$			
	OECL ($\mu\text{L} / \text{L}^{-1}$)			
	Controle	Etanol	5 μL	10 μL
0	39,08±2,01 ^{Aa}	40,20±0,47 ^{Aa}	29,87±4,05 ^{Bb}	38,25±1,06 ^{Aab}
1	29,16±1,09 ^{Bc}	35,79±0,66 ^{Ac}	24,04±2,62 ^{Cb}	20,08±1,41 ^{Cc}
2	33,16±1,39 ^{Bbc}	37,95±0,29 ^{Ab}	24,25±0,70 ^{Cb}	21,66±0,70 ^{Dc}
4	37,5±1,47 ^{Bab}	35,12±0,84 ^{Bc}	38,45±0,84 ^{ABa}	41,04±0,78 ^{Aa}
6	34,83±1,16 ^{Aab}	34,12±0,48 ^{Ac}	32,16±2,23 ^{Aab}	36,79±0,91 ^{Ab}

Letras maiúsculas diferentes nas linhas indicam diferenças significativas entre os tratamentos no mesmo tempo. Letras minúsculas nas colunas indicam diferenças significativas no mesmo tratamento em função dos diferentes tempos (Tukey, $P < 0,05$). Os dados são médias \pm erro padrão (n=8).

As concentrações testadas de OEFC (5 $\mu\text{L} / \text{L}^{-1}$ e 10 $\mu\text{L} / \text{L}^{-1}$) diminuíram a FV das tambatingas entre 1 e 2 horas de exposição em relação ao grupo controle (água). Contudo, a partir das 4 horas de exposição e até o final do experimento, as FV dos animais expostos a 5 μL^{-1} se igualaram em relação ao grupo controle. Na concentração 10 $\mu\text{L} / \text{L}^{-1}$, após 4 horas de exposição, a FV dos animais aumentou em relação ao controle (água), mas ao final das 6 horas de exposição ao OEFC, a FV deste grupo não diferiu estatisticamente em relação aos outros.

Avaliando cada concentração em tempos diferentes (0; 1; 2; 4 e 6 horas), observou-se que até 2 horas de exposição na concentração de 5 $\mu\text{L} / \text{L}^{-1}$, as FV são iguais estatisticamente em relação ao tempo zero. As 4 horas de exposição, na mesma concentração, observou-se um aumento na FV em relação ao tempo zero. Após 6 horas de exposição a essa concentração, a FV neste grupo retornou aos valores observados no início.

Na concentração de 10 $\mu\text{L} / \text{L}^{-1}$, a frequência ventilatória das tambatinga baixou significativamente entre 1 e 2 horas de exposição em relação ao tempo zero. Contudo, a partir das 4 horas de exposição e até o final das 6 horas, a FV neste grupo se manteve semelhante estatisticamente ao tempo 0.

Os peixes absorvem substâncias anestésicas principalmente pelas brânquias (FERREIRA et al., 1984). A maioria dos peixes quando em contato com uma substância anestésica apresentam um efeito inibitório no sistema respiratório, o que resulta na diminuição da frequência ventilatória (KEENE et al. 1998).

Esta alteração na frequência ventilatória dos peixes pode ser devido às diferentes espécies utilizadas, tamanho dos peixes e as concentrações de anestésicos testados que podem influenciar na resposta (ROOHI e IMANPOOR, 2015). Em *Cyprinus carpio* anestesiados com hortelã e metil salicilato, a frequência respiratória primeiramente aumentou e depois teve um pequeno decréscimo com o aumento da concentração do anestésico (ROOHI e IMANPOOR, 2015) comparado com o grupo controle. O uso de anestésicos e sedativos como o Eugenol e *Lippia alba* (BECKER et al, 2012) e OE de *Hesperozygis ringens* e *L. alba* (TONI et al 2014) reduziram a FV em Jundiás (*Rhamdia quelen*). Este comportamento de redução da FV foi semelhante aos resultados no presente estudo com a concentração de $10 \mu\text{L}^{-1}$ de OECE nas primeiras 2 horas.

5 CONCLUSÃO

Conclui-se que o óleo essencial de *Cymbopogon Flexuosus* apresenta efeito sedativo e anestésico para a tambatinga;

A concentração de $100\mu\text{L}^{-1}$ é a dose recomendada para indução à anestesia em função do seu tempo de recuperação;

As concentrações de até $10\mu\text{L}^{-1}$ do OEFCF podem ser recomendadas para manejo e transporte a curto prazo porque reduz o metabolismo.

Os parâmetros de qualidade da água permaneceram sem alteração durante e após 6 horas de exposição ao OEFCF, permanecendo em níveis indicados para criação de tambatingas.

REFERÊNCIAS

- AKHILA A. 2010. Essential Oil-Bearing Grasses: The Genus *Cymbopogon*.
- ALVARENGA C.M.D, VOLPATO G.L. 1995. Agonistic profile and metabolism in alevins of the Nile tilapia. *Physiol Behav* 57:75–80.
- BAGHERI, T., IMANPOOR, M.R., 2011. The efficacy, physiology responses and hematology of Persian sturgeon (*Acipenser persicus*) to clove oil as an anesthetic agent. *Turk. J. Fish. Aquat. Sci.* 11, 477–483.
- BARBOSA, L. G.; MORAES, G.; INOUE, L. A. K. A. 2007. Respostas metabólicas do matrinxã submetido a banhos anestésicos de eugenol. *Acta Scientiarum. Biological Sciences*, v. 29, n. 3, p. 255-260.
- BECKER AG, PARODI TV, HELDWEIN CG, ZEPPENFELD C. C, SALBEGO, J.; CUNHA, M.A.; HELDWEIN, C.; LORO, V. L. HEINZMANN. BM, BALDISSEROTTO B. 2016. Pre-sedation and transport of *Rhamdia quelen* in water containing essential oil of *Lippia alba*: metabolic and physiological responses. *Fish Physiol Biochem* 42(1):73-81.
- BECKER, A. G. , PARODI, T.V.; ZEPPENFELD,C. ;SALBEGO,J.; CUNHA, M.A.; HELDWEIN,C..G.; LORO, V.L.; HEINZMANN, B.M.; BALDISSEROTTO,B. 2016. Pre-sedation and transport of *Rhamdia quelen* in water containing essential oil of *Lippia alba*: metabolic and physiological responses. *Fish physiology and biochemistry* 42: 73-81.
- BECKER, A.G, CUNHA, M.A, GARCIA, .LO.; ZEPPENFELD, C.C.; PARODI, T.V.; MALDANER, G.; MOREL, A.F.; BALDISSEROTTO, B. 2013. Efficacy of eugenol and the methanolic extract of *Condalia buxifolia* during the transport of the silver catfish *Rhamdia quelen*. *Neotrop Ichthyol* 11:675–681.
- BECKER, A.G, PARODI TV, HELDWEIN, C.G, ZEPPENFELD, C, HEINZMANN, B.M, BALDISSEROTTO, B. 2012. Transportation of silver catfish, *Rhamdia quelen*, in water with eugenol and the essential oil of *Lippia alba*. *Fish Physiol Biochem* 38:789–796.
- BOWSER, P. R., 2001. Anesthetic options for fish. In: *Recent Advances em Veterinary and Analgesia: Companion animals*, Gleed, R. D.; Ludders, J. W (Eds.). International Veterinary Information Service (www.ivis.org), Ithaca, Nova York, EUA.

- BRASIL. 2015. Plano de desenvolvimento da Aquicultura Brasileira. MPA, Brasília-DF.
- BURKA, J. F.; HAMMEL, K. I.; HORSBERG, T. E.; JOHNSON, G. R.; RAINNIE, D. J.; SPEARS, D. J. 1997. Drugs in salmonid aquaculture - a review. *J. Vet. Pharmacol. Ther.* 20: 333-349.
- CABALLERO-GALLARDO K, OLIVERO-VERBEL J, STASHENKO EE. 2012. Repellency and toxicity of essential oils from *Cymbopogon martinii*, *Cymbopogon flexuosus* and *Lippia origanoides* cultivated in Colombia against *Tribolium castaneum*. *Journal of Stored Products Research* 50: 62- 65.
- CARLSON LHC, MACHADO RAF, SPRICIGO CB, PEREIRA LK, BOLZAN A. 2001. Extraction of lemongrass essential oil with dense carbon dioxide. *Journal of Supercritical Fluids* 21 (1): 33-39.
- CASTRO H.G. de et al. 2004. Contribuição ao estudo das plantas medicinais: metabólicos secundários. 2. Ed. Visconde do Rio Branco: UFV.
- CHANDROO, K.P., DUNCAN, I. J. & MOCCIA, R.D. 2004. Can fish suffer?: perspectives on sentience, pain, fear and stress. *Applied Animal Behaviour Science* 86(3), 225-250.
- COOKE, S.J. & SNEDDON, L.U. 2004. Animal welfare perspectives on recreational angling. *Applied Animal Behaviour Science* 104(3), 176-198.
- COUIC-MARINIER, F. & LOBSTEIN, A. 2013. Les huiles essentielles gagnent du terrain à l'officine. *Actualités Pharmaceutiques*, v. 52, n. 525, p. 18-21.
- COYLE, S.D.; DURBOROW, R.M.; TIDWELL, H.J. 2004. Anaesthetics in Aquaculture. SRAC Publication No. 3900. Southern Regional Aquaculture Center, USA.
- CRUZ A.G.; MELO A.E.E.F.; SOBREIRA C.B.; MAZETO M.D.; NAOE L.K. 2006. Densidade x biomassa: piscicultura. *Boletim Técnico*, Palmas, 13 p.
- CUNHA, M. A. D. et al. 2010. Anesthesia of silver catfish with eugenol: time of induction, cortisol response and sensory analysis of fillet. *Ciência Rural*, 40 (10) 2107-2114.
- CUNHA, M.A, SILVA, B.F, DELUNARDO, F.A.C.; BENOVI, S.C.; GOMES, L.C.; HEINZMANN, B.M, BALDISSEROTTO, B. 2011. Anesthetic induction and recovery

of *Hippocampus reidi* exposed to the essential oil of *Lippia alba*. Neotrop Ichthyol 9:683–688

DESAI MA, PARIKH J. 2012. Hydrotropic Extraction of Citral from *Cymbopogon flexuosus* (Steud.) Wats. Industrial & Engineering Chemistry Research 51 (9): 3750-3757.

DOS SANTOS, A. C., JUNIOR, G. B., ZAGO, D. C., ZEPPENFELD, C. C., DA SILVA, D. T., HEINZMANN, B. M., ... & DA CUNHA, M. A. (2017). Anesthesia and anesthetic action mechanism of essential oils of *Aloysia triphylla* and *Cymbopogon flexuosus* in silver catfish (*Rhamdia quelen*). Veterinary anaesthesia and analgesia, 44(1), 106-113.

EATON, A.D, CLESCERI, L.S, RICE, E.W, GREENBERG, A.E. 2005. Standard methods for the examination of water and wastewater, 21st edn. American Public Health Association, USA.

EUROPEAN PHARMACOPOEIA (7th ed) (2007) European Directorate for the Quality of Medicines, 311 Strassbourg, France. 4392 p.

EVANS WC. 2008. Trease and Evans Pharmacognisys Saunders ed. Vol. 15.

FERREIRA JT, SCHOONBEE HJ, SMITH GL (1984) The use of benzocaine-hydrochloride as an aid in the transport of fish. Aquaculture 42:169–174

FILHO CA, SILVA CM, QUADRI MB, MACEDO EA. 2003. Tracer diffusion coefficients of citral and Dlimonene in supercritical carbon dioxide. Fluid Phase Equilibria 204 (1): 65-73.

GILDERHUS, P.A.; MARKING 1987. Comparative efficacy of 16 anesthetic chemicals on Raibonw trout. North American Journal of fisheries Management 7: 288-292.

GOMES, L. C. et al. 2001. Efficacy of benzocaine as an anesthetic in juvenile tambaqui *Colossoma macropomum*. Journal of the World Aquaculture Society, Baton Rouge, v. 32, n. 4, p. 426-431.

GRANADO, A. 2000. Efecto de La densidad de cultivo sobre el crecimiento del morocoto, *Piaractus brachypomus*, CUVIER, 1818, (PISCES: CHARACIFORMES), confinado en jaulas flotantes. Saber, v.12, n.2, p.3-7.

GUERRA, H.F., ALCANTARA, F.B., SANCHEZ, H.R., AVALOS, S.Q. 1992. Hibridacion de paco, *Piaractus brachypomus* (Cuvier, 1818) por gamitana, *Colossoma*

macropomum (Cuvier, 1818) en Iquitos – Peru. *Folia Amazonica*. Iquitos, v.4, n.1, p.107-114.SA

HAJEK, J.G. 2011. The anaesthetic-like effect of tea tree oil in common carp *Cyprinus carpio* L. *Aquaculture Research*, 42, 296-300.

HASHIMOTO, D.T.; SENHORINI, J.A.; FORESTI, F.; PORTO-FORESTI, F. 2012. Interspecific fish hybrids in Brazil: management of genetic resources for sustainable use. *Reviews in Aquaculture*. v.4, p.108 – 118.

INOUE, L.A.K.A. et al. 2003. Clove oil anaesthetic for juveniles of matrinxã *Brycon cephalus* (Gunther, 1869). 2003. *Cienc. Rural*, Santa Maria, v. 33, n. 5, p. 943-947.

IWAMA, G.K.; ACKERMAN, P.A. 1994. Anaesthetics. In: HOCHACHKA, P.W.; MOMMSEN, T.P. *Biochemistry and molecular biology of fishes*. New York: Elsevier, 1994. V.3, p.1-15.

JAYASINHA P, ed. Lemongrass (*Cymbopogon*). ed. M.a.A.P. Series. Vol. 9. 1999, Industrial Technology Institute, Sri Lanka.

KAMADA, T. et al. 1999. Plasticidade fenotípica do óleo essencial em acessos de manjeriço (*Ocimum basilicum* L.). *Revista Brasileira de Plantas Medicinai*s, v. 1, n. 2, p. 13-22.

KEENE, J., NOAKES, D., MOCCIA, R., SOTO, C., 1998. The efficacy of clove oil as an anaesthetic for rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Aquac. Res.* 29, 89–101.

KHANUJA SPS, SHASANY AK, PAWAR A, LAL RK, DAROKAR MP, NAQVI AA, RAJKUMAR S, SUNDARESAN V, LAL N, KUMAR S. 2005. Essential oil constituents and RAPD markers to establish species relationship in *Cymbopogon Spreng.* (Poaceae). *Biochemical Systematics and Ecology*33 (2): 171-186.

KIESSLING, A.; JOHANSSON, D.; ZAHL, I. H.; SAMUELSEN, O. B. 2009. Pharmacokinetics, plasma cortisol and effectiveness of benzocaine, MS-222 and isoeugenol measured in individual dorsal aorta-cannulated Atlantic salmon (*Salmo salar*) following bath administration. *Aquaculture*, v. 286, n. 3-4, p. 301-308.

- LIMA A., C.A.R.M., GOMES, L.C. 2005. Tambaqui (*Colossoma macropomum*). In: Baldisserotto, B. Gomes, L.C. (ed) Espécies nativas para piscicultura no Brasil. 1ª ed. Santa Maria. Ed. da UFSM. p.468
- LIMA, M. S. 2005. Os fluxos de conhecimentos na piscicultura do estado do Amazonas: uma análise da trajetória e das condições institucionais. *ConTexto* 5(8): 1-20.
- LIMMA-NETTO.J. D.; SENA. A.C.; COPATTI. C.E. 2016. Essential oils of *Ocimum basilicum* and *Cymbopogon flexuosus* in the sedation, anesthesia and recovery of tambacu (*Piaractus mesopotamicus* male x *Colossoma macropomum* female). *Bol. Inst. Pesca*, 42(3): 727-733.
- LUZ, J.M.Q. et al. 2009. Teor, rendimento e composição química do óleo essencial de manjerição sob doses de cama de frango. *Horticultura Brasileira*, v. 27, n. 3, p. 349-353.
- MARKING, L.L. & MEYER, F.P. 1985. Are better anesthetics needed in fisheries? *Fisheries*, v. 10, n. 6, p. 2-5.
- MARTÍNEZ-PORCHAS, M.; MARTÍNEZ-CÓRDOVA, L. R.; RAMOS-ENRIQUEZ, R. 2009. Cortisol and Glucose: Reliable indicators of fish stress? *Pan-American Journal of Aquatic Sciences*, v. 4, n. 2, p. 158-178.
- McFARLAND, W. N. 1959. A study of the effects of anaesthetics on the behavior and physiology of fishes. *Publications of the Institute of Marine Sciences*, v.6, p. 22-25.
- NATHA SC, SARMA KK, VAJEZIKOVA I, LECLERCQ PA. 2002. Comparison of volatile inflorescence oils and taxonomy of certain *Cymbopogon* taxa described as *Cymbopogon flexuosus* (Nees ex Steud.) Wats. *Biochemical Systematics and Ecology*. 30 (151-162)
- NEIFFER DL, STAMPER MA. 2009. Fish sedation, anesthesia, analgesia and euthanasia: consideration, methods and types of drugs. *ILAR J.*; 50(4):343-60.
- OSTRENSKY, A. et al. 2000. Situação atual da aquicultura brasileira e mundial. In: VALENTI, C. V. et al. (Eds.). *Aquicultura no Brasil: bases para um desenvolvimento sustentável*. Brasília, DF: CNPq. p. 354-381.
- PARK, M.O. et al. 2008. Anaesthetic efficacy and physiological responses to clove oil anaesthetized kelp grouper *Epinephelus bruneus*. *Aquaculture Research*, v.39, p.877-884.

PAULA, F.G. et al. 2009a. Avaliação econômica do tambaqui (*Colossoma macropomum*), da pirapitinga (*Piaractus brachypomum*) e do híbrido tambatinga (*C. macropomum fêmea x P. brachypomum macho*) mantidos em viveiros fertilizados. In: REUNIÃO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 46. 2009. Maringá. Anais eletrônicos [CD-ROM], Viçosa: Sociedade Brasileira de Zootecnia.

PAULA, F.G.; SILVA, P.C.; OLIVEIRA, R.P. et al. 2009b Desempenho produtivo do tambaqui (*Colossoma macropomum*), da pirapitinga (*Piaractus brachypomum*) e do híbrido tambatinga (*C. macropomum fêmea x P. brachypomum macho*) mantidos em viveiros fertilizados. In: REUNIÃO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 46. 2009. Maringá. Anais eletrônicos [CD-ROM]; Viçosa: Sociedade Brasileira de Zootecnia.

PAULA, FERNANDA GOMES DE et al. Desempenho do tambaqui (*Colossoma macropomum*), de pira-pitinga (*Piaractus brachypomum*), e do híbrido tambatinga (*C. macropomum x P. brachypomum*) mantidos em viveiros fertilizados, na fase de engorda. 2009.

RAUBER CD, GUTERRES SS, SCHAPOVAL EES. 2005. LC determination of citral in *Cymbopogon citratus* volatile oil. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 37 (3): 597-601.

ROOHI, Z.; IMANPOOR, M. R. 2015. The efficacy of the oils of spearmint and methyl salicylate as new anesthetics and their effect on glucose levels in common carp (*Cyprinus carpio* L., 1758) juveniles. *Aquaculture* 437: 327–332

ROSS LG, ROSS B. 1999. Anaesthetic & sedative techniques for aquatic animals. Blackwell Science Ltd., Oxford, UK, pp. 176.

ROSS, L. G.; ROSS, B. 2008. In: (Ed.). Anaesthetic and Sedative Techniques for Aquatic Animals: Blackwell Publishing Ltd.

ROUBACH, R.; GOMES, L.C. 2001. O uso de anestésicos durante o manejo de peixes. *Panorama da Aqüicultura*. 11(66): 37-40.

SALBEGO J, BECKER AG, GONÇALVES JF, MENEZES CC, HELDWEIN CG, SPANEVELLO RM, LORO VL, SCHETINGER MRC, MORSCH VM, HEINZMANN BM, BALDISSEROTTO B . 2014. The essential oil from *Lippia alba* induces oxidative

stress in the silver catfish (*Rhamdia quelen*) after transportation. *Neotrop Ichthyol* 12:811–818.

SCHANEBERG BT, KHAN IA. 2002. Comparison of Extraction Methods for Marker Compounds in the Essential Oil of Lemongrass by GC. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 59: 1345.

SCHOETTGER R.A., JULIN M. 1967. Efficacy of MS-222 as an anesthetic on four salmonids. *Investigations in Fish Control*, US.

SEGNER, H. et al. 2012. Health of farmed fish: its relation to fish welfare and its utility as welfare indicator. *Fish Physiology and Biochemistry* 38, 85-105.

SEIGNEUR, G. N. 1984. Eficiencia del MS 222, quinaldina y benzocaína como anestésicos em *Rhamdia sapo* (Valenciennes, 1840). *Memorias del Asociación Latinoamericana de Acuicultura*, v.5, p. 633-639.

SILVA, L. D. L. et al. 2013. Anesthetic activity of Brazilian native plants in silver catfish (*Rhamdia quelen*). *Neotropical Ichthyology*, v. 11, n. 2, p. 443-451.

SILVA-ACUÑA, A.; GUEVARA, M. 2002. Evaluación de dos dietas comerciales sobre el crecimiento del híbrido de *Colossoma macropomum* x *Piaractus brachypomus*. *Zootecnia Tropical*, Maracay, v.20, n.4.

SMALL, B.C. 2003. Anesthetic efficacy of metomidate and comparison of plasma cortisol responses to tricaine methanesulfonate, quinaldine and clove oil anesthetized channel catfish *Ictalurus punctatus*. 2003. *Aquaculture*, v.218, p.177-185.

SMALL, B.C. 2004. Effect of isoeugenol sedation on plasma cortisol, glucose, and lactate dynamics in channel catfish *Ictalurus punctatus* exposed to three stressors. *Aquaculture*, v.238, p.469-481.

SNEDDON, L. U. 2012. Clinical Anesthesia and Analgesia in Fish. *Journal of Exotic Pet Medicine*, v. 21, n. 1, p. 32-43.

SOUZA, C.F.; BALDISSERA.M.D.; SALBEGO,J.; LOPES,J.M.; VAUCHER, R.M.; MOURÃO,R.H.V.; CARON,B.O.; HEINZMANN,B.M.; SILVA, L.V.F AND BALDISSEROTTO,B. 2017. Physiological responses of *Rhamdia quelen* (Siluriformes:

Heptapteridae) to anesthesia with essential oils from two different chemotypes of *Lippia alba*. Neotropical Ichthyology, 15(1): e160083.

SUMMERFELT, R.C.; SMITH, L.S. Anesthesia, surgery, and related techniques. In: SCHRECK, C.B.; MOYLE, P.B. 1990. Methods for fish biology. Bethesda, Maryland: American Fisheries Society. p.213-272.

TAVARES, I.B.; MOMENTÉ, V.G. & NASCIMENTO, I.R. 2011. *Lippia alba*: estudos químicos, etnofarmacológicos e agrônômicos. Pesquisa Aplicada & Agrotecnologia.

TONDOLO J.S.M., LORETO E.S., DUTRA V., NAKAZATO L., PAULA D.A.J., ZANETTE R.A., SANTURIO J.M. 2013. In vitro susceptibility of *Conidiobolus lamprauges* recovered from sheep to antifungal agents. Vet Microbiology. 166: 690-693.

TONDOLO, J.S.M., AMARAL, L.D.P., SIMOES, L.N., GARLET, Q.I., SCHINDLER, B., OLIVEIRA, T.M., SILVA, B.F.D., GOMES, L.D.C., BALDISSEROTTO, B., MALLMANN, C.A., 2013. Anesthesia and transport of fat snook *Centropomus parallelus* with the essential oil of *Nectandra megapotamica* (Spreng.) Mez. Neotrop. Ichthyol. 11, 667–674.

TONI, C., BECKER, G. ; NOVAES SIMOES, L., GARRIDO PINHEIRO, C., DE LIMA SILVA, L., HEINZMANN, B.M., OTOMAR CARON, B., BALDISSEROTTO, B., 2014. Fish anesthesia: effects of the essential oils of *Hesperozygis ringens* and *Lippia alba* on the biochemistry and physiology of silver catfish (*Rhamdia quelen*). Fish Physiol. Biochem. <http://dx.doi.org/10.1007/s10695-013-9877-4>.

TONI, C., SITCHA, J.A. M; JARABO, I. J.; MENCERA, J.M.; RODRIGUEZ, G.M.; PINHEIRO, C.G.; HEINZMANN, BALDISSEROTTO, B., 2015. Stress response in silver catfish (*Rhamdia quelen*) exposed to the essential oils of *Hesperozygis ringens*. Fish Physiol. Biochem. 41:129-138.

TRASARTI AF, MARCHI AJ, APESTEGUIA CR. 2004. Highly selective synthesis of menthols from citral in a one-step process. Journal of Catalysis 224 (2): 484-488.

VÀLQUEZ-TORRES, W. A 2005. pirapitinga: reprodução e cultivo. In: BALDISSEROTTO, B.; GOMES, L.C. Espécies nativas para piscicultura no Brasil. Santa Maria: Editora UFMS, p.203-224.

VIDAL, L. V. O. et al. 2006. Utilização do eugenol como anestésico para o manejo de juvenis de Pintado (*Pseudoplatystoma corruscans*). *Acta Scientiarum Biol. Sci. Maringá, PR*, v. 28, n. 3, p. 275-279.

WALSH, C.T.; PEASE, B.C. 2002. The use of clove oil as an anaesthetic for the longfinned eel, *Anguilla reinhardtii* (Steindachner). *Aquaculture Research*, v.33, p.627-635.

WILLIAMS e WILKINS COMPANY, 1982. *Stedman's medical dictionary*, 24th edition. Baltimore, Maryland, em SUMMERFELT, R.C.; SMITH, L.S. 1990. *Anaesthesia, surgery and related techniques*. Em: Schrek, C.B., Moyle, P.B. *methods for fish biology*, cap 8, American Fishery Society, n. 684 p.

WOODY, C.A. et al. 2002. Clove oil as an anaesthetic for adult sockeye salmon: field trials. *Journal of Fish Biology*, v.60, p.340-347.

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

ZEPPENFELD, C.C.; TONI, C.; BECKER, A.G.; MI-RON, D.S.; PARODI, T.V.; HEINZMANN, B.M.; BARCELLOS, L.J.G.; KOAKOSKI, G.; DA-RO-SA, J.G.S.; LORO, V.L.; DA-CUNHA, M.A.; BALDISSEROTTO B. 2014. Physiological and biochemical responses of silver catfish, *Rhamdia quelen*, after transport in water with essential oil of *Aloysia triphylla* (L'Herit) Britton. *Aquaculture*, 418-419: 101-107.

ANEXO A – APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA



UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS-CEUA

CIAEP:01.0341.2014

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada “**Óleos essenciais de plantas como anestésicos e aditivos em rações no crescimento de peixes**” registrada com o nº **23115.004974/2016-46**, sob a responsabilidade de **Jane Mello Lopes**, que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi considerado **Aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA- UFMA) da Universidade Federal do Maranhão em reunião de 21/11/2016.

FINALIDADE	() Ensino (X) Pesquisa () Extensão
Vigência da autorização	03/08/2016 à 05/06/2018
Espécie/linhagem/raça	Peixe (<i>Colossoma macropomum</i> ou híbrido tambatinga - <i>Coloccoma macropomun</i> x <i>Piractus brachypomum</i>)
Nº de animais	500
Peso/Idade	1-40g / alevinos e juvenis
Sexo	Fêmeas e machos
Origem	DNOCS (Departamento Nacional de Obras Contra a Seca)

Lucilene Amorim Silva

Profa. Dra. Lucilene Amorim Silva
 Presidente da Comissão de Ética no uso de
 animais-CEUA UFMA