

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

MÁRJORY KAAELLY RODRIGUES DA SILVA

**ÓLEO ESSENCIAL DE *Melaleuca alternifolia* NA SEDAÇÃO E NO
COMPORTAMENTO DA TAMBATINGA (*Colossoma macropomum x Piaractus
brachypomum*)**

Chapadina - MA

2021

MÁRJORY KAAELLY RODRIGUES DA SILVA

**ÓLEO ESSENCIAL DE *Melaleuca alternifolia* NA SEDAÇÃO E NO
COMPORTAMENTO DA TAMBATINGA (*Colossoma macropomum x Piaractus
brachypomum*)**

Monografia apresentada a Coordenação do Curso de Zootecnia, do Centro de Ciências Agrárias e Ambientais, da Universidade Federal do Maranhão, como requisito parcial para obtenção do grau de Bacharela em Zootecnia.

Orientadora: Profa e Dra. Jane Mello Lopes

Chapadinha - MA

2021

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

Rodrigues da Silva, Márjory Kaaelly.

ÓLEO ESSENCIAL DE *Melaleuca alternifolia* NA SEDAÇÃO E NO COMPORTAMENTO DA TAMBATINGA *Collossoma macropomum* x *Piaractus brachypomum* / Márjory Kaaelly Rodrigues da Silva. - 2021.

34 f.

Orientador(a): Jane Mello Lopes.

Monografia (Graduação) - Curso de Zootecnia,
Universidade Federal do Maranhão, Chapadinha, 2021.

1. Estresse. 2. Peixe. 3. Sedação. I. Mello Lopes, Jane. II. Título.

MÁRJORY KAAELLY RODRIGUES DA SILVA

**ÓLEO ESSENCIAL DE *Melaleuca alternifolia* NA SEDAÇÃO E NO
COMPORTAMENTO DA TAMBATINGA (*Colossoma macropomum* x *Piaractus
brachypomum*)**

Monografia apresentada a Coordenação do Curso de Zootecnia, do Centro de Ciências Agrárias e Ambientais, da Universidade Federal do Maranhão, como requisito parcial para obtenção do grau de Bacharela em Zootecnia.

Orientadora: Profa e Dra. Jane Mello Lopes

Aprovado em: ___/___/___

BANCA EXAMINADORA

Documento assinado digitalmente
 Jane Mello Lopes
Data: 24/01/2022 11:57:34-0300
Verifique em <https://verificador.iti.br>

Profa Dra. Jane Mello Lopes (Orientadora)
Universidade Federal do Maranhão

Documento assinado digitalmente
 Alecio Matos Pereira
Data: 26/01/2022 09:22:06-0300
Verifique em <https://verificador.iti.br>

Prof. Dr. Alécio Matos Pereira (Membro Interno/UFMA)

Documento assinado digitalmente
 RAFAEL CARVALHO DA SILVA
Data: 25/01/2022 12:44:06-0300
Verifique em <https://verificador.iti.br>

MSc Rafael Carvalho da Silva (Membro Externo)

Dedico este trabalho a Deus, que me presenteia todos os dias com a energia da vida, e que me dá forças e coragem para atingir os meus objetivos.

AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar a Deus por tudo que tens me proporcionado, por me permitir estar aqui hoje realizando um sonho e acima de tudo, por estar sempre ao meu lado me protegendo, me guiando e multiplicando minhas forças.

A Universidade Federal do Maranhão – UFMA e todo seu corpo docente e demais funcionários pela base e ensinamentos repassados e por colaborar de forma significativa para minha formação acadêmica.

Agradeço a minha mãe Adelane Rodrigues da Silva e meu pai Wanderley Rodrigues da Silva, meus dois maiores exemplos de vida, por toda educação, amor e carinho que me proporcionaram.

Agradeço aos meus irmãos, Brigida Whandra, Whesley Amokachy e Wanderley Júnior por todo amor, apoio e torcida. Muito obrigada, amo muito vocês.

Ao meu companheiro Jordão da Costa Coutinho que sempre esteve presente ao meu lado me apoiando de forma incondicional durante todos esses anos, obrigada pelo amor, carinho, e paciência que sempre teve comigo, dando-me desta forma, forças para ultrapassar essa caminhada. Toda essa dedicação foi fundamental para essa conquista.

Ao meu sogro Delsior Coutinho, meu cunhado João Pedro Coutinho por todo apoio e carinho que sempre tiveram comigo me ajudando nos momentos em que mais precisei, em especial, a minha sogra Maria Das Dores Alves a que sempre esteve ao meu lado me apoiando, me ajudando, me incentivando, acreditando e torcendo por mim.

Os mais sinceros agradecimentos vão para minha orientadora Dra. Jane Mello Lopes, pela paciência, pelos conselhos, pelas oportunidades, pelo exemplo de profissional, pela disponibilidade a mim dispensada durante a concretização desse trabalho. Obrigada por todos os ensinamentos, não somente como orientadora, mas também como professora no decorrer do curso.

Agradeço ao também ao professor Dr. Jefferson Costa de Siqueira pela ajuda na análise estatística e pelos ensinamentos ao decorrer do curso, meus agradecimentos se estendem aos professores, Dr. Marcos Bomfin e Dr. Ricardo Araújo (*In Memoriam*) pela ajuda incondicional no decorrer da graduação. Vocês foram importantes na minha vida acadêmica. Muito Obrigada!

Ao Professor Dr. Alécio Matos pela amizade, pelos conselhos, paciência e confiança e principalmente pelas palavras de incentivo que me ajudaram tanto quando precisei.

Agradeço ao Grupo Pescado que participaram de forma ativa nesse projeto

colaborando na elaboração deste trabalho de conclusão.

Ao PIBIC pela concessão da bolsa de iniciação científica.

Agradeço minha amiga Iara Reis Marinho pela amizade sincera e verdadeira, pelo apoio e carinho, pelos conselhos, por me fazer rir quando eu só tinha vontade de chorar. A minha amiga Maria Ildilene da Silva pela amizade desde o início do curso, pelas palavras de apoio, por todos os momentos de alegria compartilhados, e pela seriedade quando necessária. Thaisa Sales pela amizade, pela bondade demonstrada nos momentos em mais precisei, pelo carinho, por toda motivação, e incentivo em todos os projetos. Meninas, muito obrigada por terem tornado esta minha caminhada com menos obstáculos. Sem vocês a trajetória não seria tão prazerosa. Amo vocês, obrigada por tudo.

Agradecer também a os amigos da turma 2015/1 pelo companheirismo, pelas alegrias compartilhadas durante esses anos de labuta entre disciplina e projetos.

Agradecer também a minha amiga Carol Lima e Maria Gabriela por inúmeras vezes ter perdido sono, ou até mesmo deixado de fazer algo somente para me ajudar a entender algum assunto, algum cálculo, seja de álgebra, forragem, estatística, fisiologia vegetal, nutrição, enfim, essas disciplinas aí que faz a gente chorar de desespero. Muito obrigada por todos os ensinamentos, pela amizade, e principalmente por todas as risadas de descontração nos momentos de intenso trabalho.

Agradecer ao meu amigo Mateus César Araújo Pestana e minha amiga Rosalina Nascimento pela bondade prestada nas horas em que mais precisei.

A todos que me ajudaram nessa caminhada, mesmo que minimamente, de forma direta ou indireta, com alguma palavra de apoio, carinho, e motivação, o meu muito obrigada, em especial Silvana Marcela Oliveira, Eduardo Arouche, Patricia de Carvalho, Nataline Carneiro, Isaias Viana, Tainara Sousa, Aline Pereira, Nalberth Machado, Pedro Learte e Felipe de Oliveira,

No mais, agradeço a todos que passaram pela minha vida nesse período acadêmico, como os amigos que fiz, os colegas de classe e de outros cursos. Faltam-me palavras para agradecer, mas meu coração tranborda de gratidão a Deus por tantas pessoas maravilhosas em minha vida.

A todos, dedico meus sinceros agradecimentos.

“Talvez eu não tenha conseguido fazer o melhor, mas lutei para que o melhor fosse feito. Não sou o que deveria ser, mas Graças a Deus, não sou o que eu era antes.”

Martin Luther King

RESUMO

Os óleos essenciais têm sido amplamente utilizados em muitas aplicações comerciais, sendo uma delas os anestésicos. Este estudo avaliou o efeito de diferentes soluções de óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* (OEMA) na sedação/anestesia/recuperação e no comportamento ao estresse em Tambatinga. Num delineamento inteiramente causalizado, foram testados cinco tratamentos, incluindo o grupo controle (0,0 + 4,0 mL de álcool; 0,25; 0,5; 0,75; 1,0 mL/ L) sobre o tempo requerido a sedação, anestesia e a recuperação ao efeito anestésico. Além destes, também foram testados os possíveis efeitos sobre qualidade de água, o comportamento e mortalidade desses animais. O efeito da sedação foi avaliado de acordo com a duração da ação (sedação e recuperação), onde os peixes tiveram até 30 minutos para atingir cada estágio anestésico. A concentração de 1,0 mL/ L foi a que apresentou a melhor resposta em relação ao tempo de indução a anestesia e recuperação. No início da exposição ao óleo, os peixes apresentaram comportamento diferente do normal. Nos primeiros segundos da exposição, observou-se natação rápida, se batendo contra a parede do aquário. Na sequência, apresentaram movimentos lentos, perda parcial ou total de equilíbrio com o ventre inclinado, como se o animal deitasse, e sem reação a estímulos externos. O OEMA foi efetivo como anestésico para alevinos de tambatinga em todas as concentrações testadas. A qualidade da água se manteve inalterada durante a exposição ao óleo. Não houve mortalidade durante o experimento e após as 24 horas de observação. Além disso, observou-se que não houve mudança na cor da pele dos peixes após exposição a solução anestésica contendo óleoessencial de *M. alternifolia*. Concluiu-se que todas as concentrações testadas do óleo essencial de *M. alternifolia* apresentaram efeito sedativo e anestésico para os alevinos de tambatinga em tempo adequado para o manejo. Os parâmetros de qualidade da água e a cor da pele dos peixes permaneceram sem alteração durante e após 30 minutos de exposição nas concentrações testadas.

Palavras-chave: Estresse. Peixes. Sedação.

ABSTRACT

Essential oils have been widely used in many commercial applications, one of which is anesthetics. This study evaluated the effect of different essential oil solutions of *Melaleuca alternifolia* (EOMA) on sedation/anesthesia/recovery and stress behavior in Tambatinga. In a completely causal design, five treatments were tested, including the control group (0.0 + 4.0 mL of alcohol; 0.25; 0.5; 0.75; 1.0 mL/L) over the time required sedation, anesthesia and recovery to the anesthetic effect. In addition to these, the possible effects on water quality, behavior and mortality of these animals were also tested. The effect of sedation was evaluated according to the duration of action (sedation and recovery), where the fish had up to 30 minutes to reach each anesthetic stage. The concentration of 1.0 mL/L was the one that presented the best response in relation to the time of induction to anesthesia and recovery. At the beginning of exposure to the oil, the fish behaved differently than normal. In the first seconds of exposure, fast swimming was observed, hitting the aquarium wall. In the sequence, they presented slow movements, partial or total loss of balance with the belly inclined, as if the animal lay down, and without reaction to external stimuli. EOMA was effective as an anesthetic for tambatinga fingerlings at all concentrations tested. Water quality remained unchanged during exposure to oil. There was no mortality during the experiment and after 24 hours of observation. In addition, it was observed that there was no change in the skin color of the fish after exposure to anesthetic solution containing essential oil of *M. alternifolia*. It is concluded that all tested concentrations of *M. alternifolia* essential oil presented sedative and anesthetic effect for tambatinga fingerlings in adequate time for handling. Water quality parameters and fish skin color remained unchanged during and after 30 minutes of exposure at the concentrations tested.

Keywords: Stress. Fish. Sedation

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Foto de <i>Melaleuca alternifolia</i>	17
Figura 2 - Exemplar de Tambatinga.....	19
Figura 3A - Aquários usados durante o experimento.....	21
Figura 3B - Animais em anestesia.....	21
Figura 4 - Tempo requerido (minutos) para estagio de sedação em alevinos de tambatingas expostas ao óleo essencial de <i>M. alternifolia</i>	23
Figura 5 - Tempo requerido (minutos) para anestesia em tambatingas expostas ao óleo essencial de <i>M. alternifolia</i>	24
Figura 6 - Peixe A: Concentração 0,25 mL/ L; Peixe B: Concentração 0,50 mL/ L; Peixe C: Concentração de 0,75 mL/ L; Peixe D: Concentração 1,0 mL/ L.....	27

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Características comportamentais dos peixes observadas de acordo com os diferentes estágios de anestesia.....	21
Tabela 2 - Mudanças comportamentais observadas em resposta ao estresse.....	22
Tabela 3 - Parâmetros da água observados durante a exposição da tambatinga ao óleo essencial de <i>M.alternifolia</i> adicionado à água.....	26

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

OE	Óleo Essencial
OEMA	Óleo essencial de <i>Melaleuca alternifolia</i>
E1	Estágio 1
E2	Estágio 2
μL	Micro Litro
ml	Mililitro
UFMA	Universidade Federal do Maranhão
CEUA	Comissão de Ética no Uso de Animais
L	Litro
Temp	Temperatura
TTO	Tea Tree Oil
PB	Proteína Bruta
O2D	Oxigênio dissolvido
TAM	Amônia total
SNC	Sistema Nervoso Central

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
2 REVISÃO DE LITERATURA	17
2.1 Descrição da <i>Melaleuca alternifolia</i>	17
2.2 Óleos essenciais com potencial para anestesia	18
2.3 Tambatinga	19
3 MATERIAL E MÉTODOS	20
3.1 Local e manejo dos animais	20
3.2 Indução a anestesia e recuperação	20
3.3 Avaliação da qualidade da água	22
3.4 Análise estatística	22
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	23
4.2 Sedação-Anestesia-Recuperação	23
5 CONCLUSÃO	28
REFERÊNCIAS	29

1 INTRODUÇÃO

A piscicultura é um dos ramos da aquicultura referente ao cultivo de peixes e pode ser feita de diversas formas da extensiva até a superintensiva (ROCHA et al., 2012). É considerada uma atividade agropecuária em crescimento e de extrema importância para o desenvolvimento socioeconômico de todas as regiões do Brasil (LIMA et al., 2005) ocupando um importante papel na economia nacional, devido à contínua expansão, causada principalmente em função da qualidade, disponibilidade de água, insumos para elaboração de rações e das condições climáticas favoráveis à criação (LOPES et al., 2010).

O processo de criação de peixes em cativeiro exige uma série de práticas de manejo como o transporte, a captura, o manejo reprodutivo, a biometria, as quais causam injúrias a esses animais e que conseqüentemente estão entre os principais fatores estressantes que podem afetar seu desempenho (COOKE et al., 2007; SALBEGO et al., 2014).

Óleos essenciais vêm sendo recomendado como anestésicos com o objetivo de reduzir o estresse durante essas práticas de manejo. O uso destes produtos no manejo de peixes vem crescendo cada vez mais durante o cultivo de peixes, sendo necessário a investigação de respostas fisiológicas das diferentes espécies aos possíveis anestésicos, pois dependendo da intensidade e duração das reações metabólicas, certo anestésico pode ser indicado ou contraindicado (OLIVEIRA et al., 2009).

Normalmente, a utilização desses anestésicos pode causar supressão de inúmeras respostas ao estresse do peixe, 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), entretanto, dependendo da concentração utilizada ou do tempo de exposição do animal ao óleo, algumas substâncias anestésicas podem provocar estresse ao animal (BARBOSA et al., 2007; KIESSLING et al., 2009).

De acordo com Zahl (2009), a eficiência da utilização das substâncias anestésicas varia intra e inter espécie, ou seja, peixes da mesma espécie com tamanho, idade e sexo diferentes podem responder de diferentes formas a determinadas concentrações de anestésico. Essas respostas também podem variar de acordo com os parâmetros da água como o pH, a salinidade, a temperatura e o nível de oxigênio dissolvido. Além disso, o conteúdo de gordura, a massa corporal, influenciam na velocidade de indução e também no tempo de recuperação dos animais (BURKA et al., 1997; GOMES et al., 2011).

A ação de anestésiar pode ser feita por via injetável no peixe, embora a maioria seja administrada na água, por meio da imersão dos peixes em uma solução anestésica (BOWSER,

2001; ROUBACH e GOMES, 2001). Quando administrados na água, os anestésicos tendem a ser absorvidos através das brânquias e pele dos peixes, alcançando assim, o sistema circulatório do animal e, bloqueando algumas ações reflexas (SUMMERFELT e SMITH, 1990). Segundo ROSS e ROSS (2009), a solução da droga é absorvida pelas brânquias dos peixes e transportado via corrente sanguínea até o sistema nervoso central (SNC), promovendo depressão dose dependente e levando a um estado de anestesia induzida.

Bosworth (2007), diz que o peixe sedado dentro do processo de captura, antes do abate, evita o estresse que supostamente ocorreria durante o manejo e abate, conseqüentemente, melhorando a qualidade da carne. No entanto, há uma preocupação de que resíduos de substâncias anestésicas possivelmente deixados na carne possam alterar as características organolépticas naturais do peixe (aroma e o sabor), a ponto de resultar na rejeição do produto pelos consumidores (OLSEN et al., 2006; RIBAS et al., 2007)

Diante do exposto, considerando a inexistência de estudos associando o óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* como anestésico para Tambatinga, o presente estudo tem por objetivo avaliar o óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* na sedação e no comportamento da cor da tambatinga (*Colossoma macropomum* x *Piaractus brachypomum*), visando dessa forma contribuir com informações relevantes sobre as vantagens de um produto natural associado à piscicultura com o intuito de proporcionar benefícios à produção e bem-estar desses animais.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Descrição da *Melaleuca alternifolia*

A *Melaleuca alternifolia*, pertence à família Myrtaceae, é uma pequena árvore ou arbusto fusiforme de origem australiana, suas folhas são em formato de agulhas e as flores são amarelas ou arroxeadas, é popularmente conhecida como “tea tree” (árvore do chá), floresce principalmente em regiões pantanosa, próximas de rios, e pode crescer até 6m de altura. É utilizada pela medicina tradicional devido às propriedades antifúngicas, bactericidas e anti-inflamatórias do seu principal constituinte presente no óleo essencial, o terpinen-4-ol (CARSON et al., 2006), além disso, apresenta propriedades anestésicas e analgésicas (CARSON & RILEY, 2001).

A *Melaleuca alternifolia* é considerada a espécie mais importante e mais representativa do gênero *Melaleuca* (Myrtaceae) contendo aproximadamente 230 espécies existentes (SHARIFI-RAD et al, 2017). Seu óleo essencial (OE) é considerado extremamente volátil, também chamado de “óleo de árvore do chá” (Tea tree oil - TTO) (SHARIFI-RAD et al, 2017; AMRI et al, 2012; MERTAS et al, 2015). Seu OE é caracterizado por um líquido de cor amarelo, de odor característico, extraído por arraste em vapor das folhas e ramos terminais desta planta. É formado por hidrocarbonetos terpenos, principalmente os monoterpenos, os sesquiterpenos e seus álcoois associados. Os terpenos são compostos aromáticos voláteis (hidrocarbonetos) e podem ser considerados polímeros do isopreno (CORREIA et al, 2017; MERTAS et al, 2015).

O uso desse óleo é bastante utilizado em pisciculturas ornamentais como medicamento cicatrizante de origem natural (HAJEK, 2011), no entanto, ainda existem poucos estudos sobre sua atividade anestésica em peixes.



Figura 1 - Foto de *Melaleuca alternifolia*

2.2 Óleos essenciais com potencial para anestesia

É importante o conhecimento de métodos que permitam intervenções nas funções vitais e fisiológicas dos peixes para evitar que ocorra morte durante o transporte ou manejo (OLSEN, et al., 1995; CUNHA, 2007). Fatores estressantes como, por exemplo, a captura, o manuseio, triagem e o transporte de peixes podem ter impacto negativo sobre sua saúde e seu crescimento (PERDIKARIS et al., 2010). Segundo Massone (2011), uma maneira de minimizar esse estresse e conseqüentemente facilitar o manuseio seria sedar os animais através de OEs, esse procedimento resulta na perda de sensibilidade do animal, que pode ocorrer em diferentes níveis: de uma diminuição a níveis seguros de funções fisiológicas específicas, à perda de consciência, caracterizada por sono induzido e relaxamento muscular sem perda das funções vitais do animal.

Também chamados de óleos voláteis, são constituídos de uma mistura complexa de substâncias voláteis, de viscosidade parecida à dos óleos insolúveis em água e solúveis em solventes orgânicos, como o etanol. Esses produtos são obtidos de matéria-prima vegetal através do processo de hidrodestilação, extração por solventes orgânicos, destilação a vapor, extração por fluido supercrítico, enfloração, prensagem a frio, dentre outros. (EDRIS, 2007; BAKKALI et al., 2008).

De forma geral, a anestesia em peixes para o manejo de rotina em piscicultura ocorre via inalação, por meio de banhos de imersão, sendo a solução anestésica absorvido através das brânquias (Z AHL et al., 2012). Entretanto, em alguns casos específicos, como em peixes de grande porte e de respiração aérea obrigatória, a técnica de anestesia empregada consiste na aspersão branquial dos anestésicos (HONCZARYK e INOUE, 2009; 2010).

Segundo Park (2008), quanto maior a concentração utilizada do óleo, menor será o tempo de induzir a anestesia, podendo conter uma relação inversa entre o tempo e a recuperação.

Portanto, o uso de anestésicos em piscicultura é considerado vital para reduzir a interferência de estressores (MOREIRA et al., 2011). A escolha do anestésico, no entanto, deve ser relacionada a vários fatores, entre eles a sua ação rápida no sistema nervoso (GONÇALVES et al., 2008). A anestesia engloba as fases de indução, manutenção e recuperação (COYLE; DURBOROW; TIDWELL, 2004; NEYFFER; STAMPER, 2009).

2.3 Tambatinga

A tambatinga é um híbrido resultante do cruzamento entre a fêmea de tambaqui (*Colossoma macropomum*) e o macho de pirapitinga (*Piaractus brachypomus*) (GUERRA et al., 1992). Apresenta a cor clara, com a ponta das nadadeiras caudal e anal avermelhada, os rastros branquiais um pouco mais desenvolvidos que a pirapitinga, possibilitando assim, maior eficiência no processo de filtragem do plâncton (GUERRA et al., 1992). Esse híbrido pode apresentar características de suas espécies parentais, tendo como vantagens de maior resistência às doenças, adquiridas da pirapitinga e o maior crescimento adquiridos do tambaqui (SILVA-ACUÑA E GUEVARA, 2002; HASHIMOTO et al., 2012).

O animal possui hábito alimentar onívoro, especialmente frugívoro-herbívoro, podendo chegar até 80 cm de comprimento e peso corporal de aproximadamente 15kg (CRUZ et al. 2006). O seu aparelho dentário é formado por seis dentes na área dentígera inferior e dois dentes pronunciados, e diversas projeções localizadas na lateral, na área dentígera superior, o que lhe dar um aspecto mais agressivo (ARARIPE, 2011).

A tambatinga é superior em crescimento e produtividade (HASHIMOTO et al., 2012) e quando comparado com as suas espécies parentais, apresenta melhor conversão alimentar (PAULA et al., 2009a); (PAULA et al., 2009b). De acordo com Silva-Acuña e Guevara (2002), esse peixe possui facilidade para atingir o seu peso comercial em curto período de tempo e com baixos níveis de PB em sua dieta, o que pode representar uma economia com custo total de ração.



Figura 2 - Exemplar de Tambatinga
Fonte: SILVA, M. K. R. (2021).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Local e manejo dos animais

Os experimentos foram conduzidos no setor de piscicultura do Centro de Ciências Agrárias e Ambientais da Universidade Federal do Maranhão, campus de Chapadinha-MA de acordo com as normas éticas de pesquisa com animais (Processo nº 23115.004974/2016-46).

Foram utilizados alevinos de tambatinga (*Colossoma macropomum x Piaractus brachypomum*) (Figura 2) com peso médio de $8,0 \pm 2,0$ g e comprimento padrão de $7,0 \pm 1,0$ cm, obtidos de uma piscicultura comercial na região de Chapadinha-MA.

Após a chegada ao setor de piscicultura os peixes foram mantidos para aclimatação 10 dias em tanques externos com capacidade total de (6000L) com renovação diária de água e aeração constante até o início do experimento. Durante este período os animais foram alimentados à vontade com ração comercial, duas vezes ao dia.

3.2 Indução a anestesia e recuperação

O óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* (OEMA) foi obtido de uma empresa comercial do RS. O óleo foi obtido dos ramos e folhas, o método de extração utilizado foi o de destilação por arraste a vapor d'água. Após sua obtenção o óleo foi armazenado, vedado e conservado em garrafas âmbar em -4 °C, até o início do experimento. A composição química de cada óleo essencial foi determinada por cromatografia gasosa e espectrometria de massas, conforme descrito por (POTZERNHEIM et al., 2012). Os animais foram expostos a diferentes concentrações do óleo essencial de melaleuca (0,25; 0,50; 0,75; 1,0 mL/ L) previamente diluído em etanol (1:4). Além dessas concentrações testadas, os peixes foram expostos a um grupo controle (Etanol) na concentração de 4,0 mL/ L, baseada na diluição da maior concentração do OE testado. O tempo máximo de exposição ao óleo foi de 30 minutos.

Durante o experimento, foram utilizados seis (6) aquários contendo 1L de água, continuamente aerada (Figura 3). Utilizou-se um peixe por aquário (n=6) e cada peixe foi usado apenas uma vez. A alimentação foi cessada 24h antes do início do experimento afim de esvaziar seus tratos digestivos e durante a exposição ao óleo os peixes não foram alimentados.

A determinação dos estágios anestésicos foi realizada pela ação de estímulos externos (toque na cauda do animal com bastão de vidro sem usar de força bruta) e pela avaliação comportamental dos peixes (leve perda de resposta a estímulos externos, o nado errático e a

perda total de resposta). Os estágios de indução a anestesia (Tabela 1) avaliados foi adaptado de Small (2003).

Tabela 1 - Características comportamentais dos peixes observadas de acordo com os diferentes estágios de anestesia.

Estágio	Atividade/Resposta
E1	Sedação: Pouca reação a estímulos externos, Perda parcial do equilíbrio, Natação errática.
E2	Anestesia: Total perda de equilíbrio. Sem locomoção.
E3	Recuperação: Recuperação da posição normal de nado da capacidade de nadar.

Fonte: Adaptado de SMALL (2003).

No decorrer de todo o processo, os peixes foram monitorados visualmente e aos tempos necessários para atingir os estágios de anestesia foram cronometrados e registrados, sendo esse tempo quantificado assim que cada animal foi colocado dentro da solução anestésica, até a ausência de seus movimentos dentro do aquário.

Após a indução ao anestésico, 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.



Figura 3A - Aquários usados durante o experimento **Figura 3B** - Animais em anestesia.

Fonte: SILVA, M. K. R. (2021).

De acordo com o protocolo, após a recuperação os animais foram agrupados por grupos e transferidos para caixas de 500L, onde foram observados por 24h, em relação a

comportamento anormal ou mortalidade.

Em relação a mudança de cor dos peixes expostos as diferentes concentrações do óleo de Melaleuca, nesta fase do experimento, os peixes foram fotografados antes da exposição ao óleo e após a anestesia, a fim de comparar as mudanças na cor e no padrão da pele. Essas mudanças comportamentais em resposta ao estresse foram avaliadas de acordo com o estudo de (REZENDE et al., 2017).

Tabela 2 - Mudanças comportamentais observadas em resposta ao estresse.

Categoria comportamental		Resposta	
Cor da pele	normal	Clara	Mais escura
Nadadeira	normal	Retraída	Eriçada
Natação	normal	Errático	Espasmos

Fonte: Adaptado de Rezende (2017)

3.3 Avaliação da qualidade da água

Durante os experimentos foram avaliados a temperatura, o oxigênio dissolvido, pH e a amônia total. Para a obtenção de temperatura e os níveis de oxigênio dissolvido utilizou-se um oxímetro digital (HANNA - T160), para pH da água um peagâmetro digital (DMPH-2pH) e a amônia total pelo método colorimétrico.

3.4 Análise estatística

Os dados de tempo de sedação, anestesia e recuperação dos animais após 30 minutos de exposição foram determinados pela à análise de variância (ANOVA), seguido do teste de Tukey para contrastar as médias ($\alpha = 0,05$) usando o pacote estatístico SAS. As correlações entre indução e os tempos de recuperação foram avaliados por regressão linear. As alterações na cor e no padrão da pele assim como as demais alterações comportamentais foram avaliadas por estatística descritiva

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.2 Sedação-Anestesia-Recuperação

Não ocorreu mortalidade durante o experimento e após as 24 horas de observação. O uso de etanol (4,0 mL/ L) no grupo controle não induziu a sedação nem anestésia nos animais. O OEMA foi efetivo como sedativo e anestésico para alevino de tambatinga em todas as concentrações testadas, considerando que todas as induziram a sedação e a anestesia dentro do tempo ideal segundo a literatura.

No início da exposição ao óleo, os peixes apresentaram comportamento diferente do normal. Nos primeiros segundos da exposição, observou-se natação rápida, se batendo contra a parede do aquário indicando desconforto da exposição ao sedativo. Na sequência apresentaram movimentos lentos, perda parcial ou total de equilíbrio com o ventre inclinado, e sem reação a estímulos externos. Os dados referentes aos tempos que cada animal levou para atingir cada estágio de sedação quando expostos a diferentes concentrações do OEMA estão representados na Figura 4.

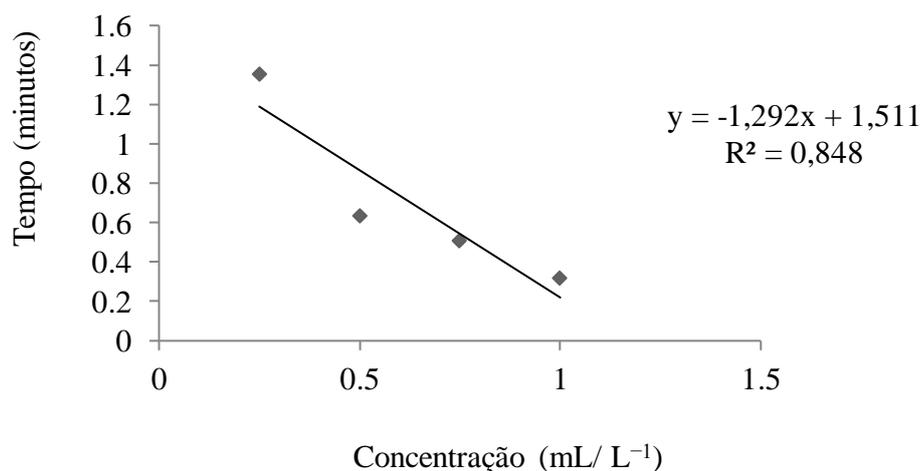


Figura 4 - Tempo requerido (minutos) para estágio de sedação em alevinos de tambatingas expostas ao óleo essencial de *Melaleuca alternifolia*.

Todas as concentrações do OE avaliadas (0,25; 0,5; 0,75; 1,0 mL/ L) foram eficientes para promover os estágios de sedação (E1) em alevinos de tambatinga. As concentrações foram

eficientes para promover o estágio de sedação (E1) em menos de 2 minutos. O aumento da concentração do OE implicou na redução do tempo para indução a sedação, como observado na figura 4

A sedação é um primeiro estágio da anestesia na qual diminui a percepção sensorial e não há perda do equilíbrio. O estágio de sedação é recomendado para transporte porque auxilia na diminuição do estresse, reduzindo o metabolismo dos peixes o que tranquiliza o animal (CUNHA et al., 2011), reduz a excreção da amônia metabólica e reduz as injúrias físicas causadas pelo contato entre o peixe e a embalagem de transporte.

A anestesia envolve várias fases que incluem sedação, imobilização, inconsciência, amnésia (perda de memória) e analgesia (alívio da dor) (Z AHL et al., 2012). Os anestésicos são utilizados em diversas práticas de rotina na piscicultura para redução do metabolismo dos peixes, e consequente diminuição do consumo de oxigênio, produção de CO₂ e elevados níveis de amônia, permitindo assim o uso de maiores densidades de estocagem para a transferência dos peixes de forma mais eficiente (SAMPAIO e FREIRE, 2016).

No estágio E2, os peixes expostos a todas as concentrações testadas de *Melaleuca* foram anestesiados em menos de 3 minutos, apresentando menor tempo de indução na concentração mais alta, como observado na figura 5.

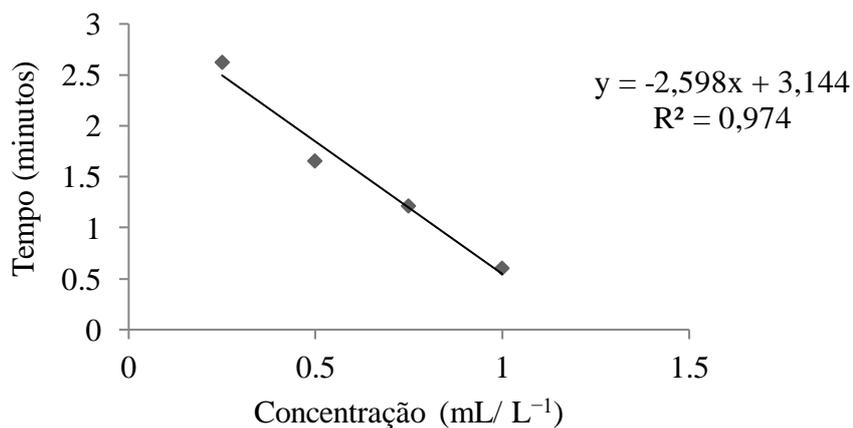


Figura 5 - Tempo requerido (minutos) para anestesia em tambatingas expostas ao óleo essencial de *Melaleuca alternifolia*.

Com o aumento das concentrações do anestésico, os peixes foram anestesiados em menor tempo. Estes resultados corroboram com o estudo realizado por Hajek (2011), testando o mesmo óleo de tea tree como anestésico para carpa (*Cyprinus carpio* L.), em que para todas as concentrações testadas (de 0,2 a 0,6 mL/ L⁻¹) teve um efeito dependente, resultando em

sedação e imobilização, mas a anestesia só foi efetiva em 0,5 mL/ L⁻¹.

Correia e colaboradores (2017) analisaram a ação analgésica e anestésica do TTO além de outros óleos em peixes, e como resultado observaram que 500 µL L⁻¹ foi eficaz como analgésico e anestésico.

Para *C. macropomum*, o uso do EO de *L. alba* em concentrações de 200 e 300 mg/L induziram a anestesia mais rápida em um tempo menor que 4 min. No entanto, o uso de concentrações de sedativos de 50 e 100 mL/ L⁻¹ durante a exposição ao estresse de manuseio não promoveu uma redução nas respostas ao estresse, como o aumento dos níveis de glicose e amônia plasmática, em peixes (BATISTA et al., 2018).

A eficiência da anestesia depende de fatores inerentes ao fármaco, a espécie a ser anestesiada e ao local onde o procedimento será realizado (GRESSLER et al., 2017). Fatores ambientais como a temperatura da água, o pH, a salinidade e a dureza da água podem afetar a taxa metabólica alterando a absorção e a margem de segurança do anestésico (Z AHL, et al., 2011). Em temperaturas mais altas, a perfusão branquial é maior, possibilitando a absorção mais rápida do fármaco, enquanto que em temperaturas mais baixas são necessárias concentrações mais altas e/ou tempo de indução mais prolongados (HIKASA et al., 1986, HOSKONEN & PIRHONEN, 2004).

O anestésico deve apresentar um tempo de anestesia menor que 3 min e uma recuperação rápida, com um tempo menor que 5 min nos peixes, além disso, é uma alternativa barata, prático de usar, solúvel em água e não deixa resíduos em peixes ou no ambiente (BOLASINA et al., 2017; PARK et al., 2017; PURBOSARI et al., 2019).

Segundo Walsh & Pease (2002) tanto a temperatura da água quanto o comprimento do peixe (WOOD et al. 2002) interferem no tempo de indução à anestesia. Quanto maior o animal, menor será a taxa metabólica, conseqüentemente, menor será o consumo de oxigênio, tornando a indução à anestesia mais prolongada. Conforme Park et al. (2008), o tempo de indução a anestesia é referente a concentração do anestésico, pois quanto maior for a concentração utilizada, menor será o tempo para indução à anestesia, contendo também uma relação inversa entre esse tempo e a recuperação. Portanto, maiores concentrações dos anestésicos são necessárias para induzir a anestesia nos peixes de maior tamanho (Z AHL et al., 2012).

Quanto à espécie a ser anestesiada, o estágio de vida, o peso, a condição de saúde, a atividade, a taxa de consumo de oxigênio, a razão entre o peso corporal e a área de superfície branquial está entre os fatores que afetam a taxa metabólica e conseqüentemente a farmacocinética do produto utilizado (Z AHL; SAMUELSEN; KIESSLING, 2012).

O anestésico usado deve ser eficaz em baixas concentrações, além disso, deve ser seguro

para os manipuladores e o meio ambiente. Fatores práticos devem ser considerados como baixo custo e facilidade tanto na obtenção quanto na aplicação, quando se opta por um determinado produto (GRESSLER et al., 2017).

Não houve diferença significativa entre os tratamentos na fase de recuperação, o maior tempo foi 6 min. Alguns autores relatam que o tempo de recuperação dos peixes é influenciado tanto pelo tempo de exposição ao anestésico, quanto pela temperatura da água, independente da dose utilizada (ROTILI et al., 2012; SANCHEZ et al., 2014). O objetivo é o retorno mais rápido possível das funções normais dos sistemas respiratório e circulatório do peixe, bem como das atividades sensoriais e motoras aos níveis pré-anestésicos (GRESSLER et al., 2017).

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.

Os protocolos de indução anestésica em peixes descrevem diversos estágios, estabelecidos de acordo com as alterações comportamentais, como mudanças no padrão de natação, frequência respiratória e reações a estímulos externos (SMALL, 2003; ZAHL et al., 2012).

A qualidade de água é determinante, pois, a água é o meio no qual se realiza o procedimento de anestesia e seguidamente a recuperação, interferindo diretamente no tempo de indução para que os peixes alcancem cada estágio (OLSEN et al., 1995; STEHLY & GINGERICH, 1999).

A qualidade da água dos juvenis de tambatinga após exposição ao óleo manteve-se dentro da faixa adequada a espécie e não diferiu estatisticamente entre os tratamentos. Os resultados da análise desses parâmetros de qualidade da água neste estudo estão apresentados na Tabela 2.

Tabela 3 - Parâmetros da água observados durante a exposição da tambatinga ao óleo essencial de *M.alternifolia* adicionado à água.

	Concentrações					
	Água	Etanol*	0,25 mL/L	0,50 mL/L	0,75mL/L	1,0 mL/L
O ₂ D	6,6±0,6	5,81±0,2	6,2±0,1	6,60±0,2	6,26±0,2	5,92±0,1
Temp	28±0,1	28±0,2	28±0,2	28±0,1	28±0,1	28±0,3
pH	7,19± 0,3	6,19± 0,2	6,27±0,1	6,30±0,1	6,2±0,2	6,4±0,00
TAN	-	-	0,25± 0,1	0,25±0,1	0,25±0,1	0,25±0,1

*concentração etanol 4,0 mL/ L⁻¹; O₂D: Oxigênio dissolvido (mg/L); TAN: Amônia total (mg/L);Temp: Temperatura da água (°C). Dados estão expressos como media ± desvio padrão.

A temperatura da água se manteve em 28°C, sendo esse valor considerado recomendado para o cultivo de tambatinga pois, segundo Paula (2009), os valores de temperatura considerada adequada para um bom desempenho de espécies tropicais como o tambaqui a pirapitinga e o híbrido tambatinga, é na faixa de 28 a 32°C. O pH não diferiu entre os tratamentos, permaneceu na faixa de 6,2 - 7,19, o oxigênio dissolvido ficou entre 6,60 e 5,81 mg/L e a amônia total ficou em média 0,25 mL/ L⁻¹ de forma similar ao relatado em outros trabalhos com emprego de óleo essencial *Cymbopogon flexuosus* em alevinos de tambatinga (SOUSA et al. 2017). Portanto, de acordo com Paula (2009), esses valores são adequados para a criação das tambatingas.

Baseado na figura 6 A-B, observou-se que não houve mudança na cor da pele dos peixes após exposição a solução anestésicas contendo óleo essencial de *Melaleuca alternifolia*, de forma similar ao relatado em outros trabalhos com a sedação de tilápia do nilo com óleos essenciais: tea tree, clove, eucalipto e óleos de hortelã, onde o peixe sob o efeito da solução de óleo da árvore do chá não teve alterações na cor da pele e não apresentou mudanças no comportamento de natação durante a sedação (REZENDE et al., 2017).

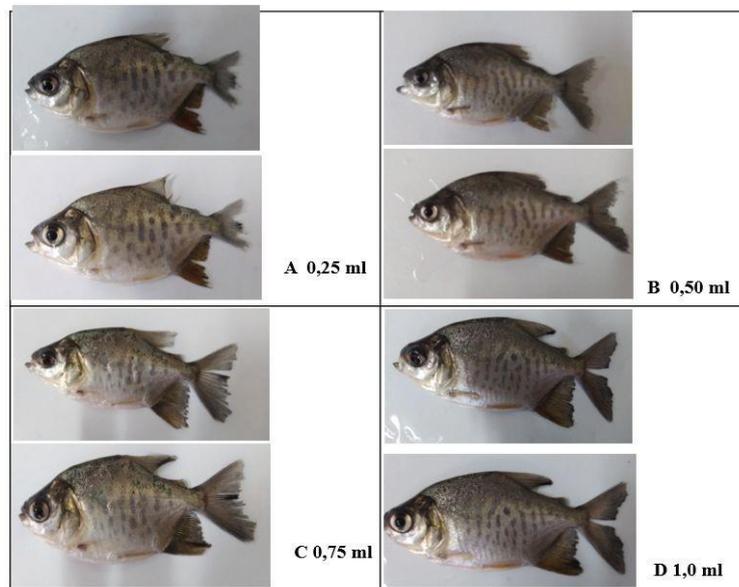


Figura 6 - Peixe A: Concentração 0,25 mL/ L; Peixe B: Concentração 0,50 mL/ L; Peixe C: Concentração de 0,75 mL/ L; Peixe D: Concentração 1,0 mL/ L.

Fonte: SILVA, M. K. R. (2021).

5 CONCLUSÃO

Todas as concentrações testadas do óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* apresentaram efeito sedativo e anestésico para os alevinos de tambatinga em tempo adequado durante o manejo rápido. Os parâmetros de qualidade da água e a cor da pele dos peixes permaneceram sem alteração durante e após 30 minutos de exposição nas concentrações testadas. Desta forma, conclui-se que o uso do óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* não promoveu estresse nos animais.

REFERÊNCIAS

- AMRI, I. et al. Chemical composition and biological activities of the essential oils from three *Melaleuca* species grown in Tunisia. **International journal of molecular sciences**, v. 13, n. 12, p. 16580-16591, 2012.
- ARARIPE, M.N.B.A Redução da proteína bruta com suplementação de aminoácidos em rações para alevinos de tambatinga. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 40, p. 1845-1850, 2011.
- BAKKALI, Fadil et al. Biological effects of essential oils—a review. **Food and chemical toxicology**, v. 46, n. 2, p. 446-475, 2008.
- BARBOSA, L. G.; MORAES, G.; INOUE, L. A. K. A. Respostas metabólicas do matrinxã submetido a banhos anestésicos de eugenol. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v. 29, n. 3, p. 255-260, 2007.
- BATISTA, E.S., BRANDÃO, F.R., MAJOLO, C., INOUE, LAKA, MACIEL, P.O., OLIVEIRA, M.R., CHAVES, F.C.M., CHAGAS, E.C., Lippia alba essential oil as anesthetic for tambaqui. **Aquaculture**, v. 495, p. 545-549, 2018.
- BOLASINA, S. N., DE AZEVEDO, A., PETRY, A. C. Comparative efficacy of benzocaine, tricaine methanesulfonate and eugenol as anesthetic agents in the guppy *Poecilia vivipara*. **Aquaculture Reports**, v. 6, p. 56-60, 2017.
- BOSWORTH, B.G.; SMALL, B.C.; GREGORY, D.; KIM, J.; BLACK, S.; JERRETT, A. Effects of rested-harvest using the anesthetic AQUI-S™ on channel catfish, *Ictalurus punctatus*, physiology and fillet quality. **Aquaculture**, v.262, p.302-318, 2007.
- BOWSER, P. R. Anesthetic options for fish. In: Recent Advances in Veterinary and Analgesia: Companion animals, GLEED, R. D.; LUDDERS, J. W (Eds.). **International Veterinary Information Service** (www.ivis.org), Ithaca, Nova York, EUA, 2001.
- BURKA, J. et al. Drugs in salmonid aquaculture—a review. **Journal of veterinary pharmacology and therapeutics**, v. 20, n. 5, p. 333-349, 1997.
- CARSON, C.F.; HAMMER, K.A.; RILEY, T.V. *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil: a review of antimicrobial and other medicinal properties. **Clinical Microbiology Reviews**, v.19, n.1, p.50-62, 2006.
- CARSON, C. F., RILEY, T. V. Safety, efficacy and provenance of tea tree (*Melaleuca alternifolia*) oil. **Contact dermatitis**, v. 45, n. 2, p. 65-67, 2001.
- COOKE, S. J.; SNEDDON, L. U. Animal welfare perspectives on recreational angling. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 104, n. 3-4, p. 176-198, 2007.
- CORREIA, A. M. et al. Basil, tea tree and clove essential oils as analgesics and anaesthetics in *Amphiprion clarkii* (Bennett, 1830). **Brazilian Journal of Biology**, v. 78, p. 436-442, 2017.

COYLE, Shawn D. et al. **Anesthetics in aquaculture**. Stoneville: Southern Regional Aquaculture Center, 2004.

CRUZ A.G.; MELO A.E.E.F.; SOBREIRA C.B.; MAZETO M.D.; NAOE L.K. Densidade x biomassa: piscicultura. *Boletim Técnico*, Palmas, 13 p, 2006.

CUNHA, M. A. D., SILVA, B. F. D., DELUNARDO, F. A. C., BENOVI, S. C., GOMES, L. D. C., HEINZMANN, B. M., BALDISSEROTTO, B. Anesthetic induction and recovery of *Hippocampus reidi* exposed to the essential oil of *Lippia alba*. **Neotropical Ichthyology**, v. 9, p. 683-688, 2011.

CUNHA, M. A. D. Anestesia em jundiás (*Rhamdia quelen*) expostos a substâncias isoladas de plantas. 2007.

EDRIS, A. E. Pharmaceutical and therapeutic potentials of essential oils and their individual volatile constituents: a review. **Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives**, v. 21, n. 4, p. 308-323, 2007.

GOMES, D. P. et al. Water parameters affect anaesthesia induced by eugenol in silver catfish, *Rhamdia quelen*. *Aquaculture Research*, v. 42, n. 6, p. 878-886, 2011.

GONÇALVES, A. F. N., SANTOS, E. C. C., FERNANDES, J. B. K., TAKAHASHI, L. S. Mentol e eugenol como substitutos da benzocaína na indução anestésica de juvenis de pacu. **Acta scientiarum. Animal sciences**, v. 30, n. 3, p. 339-344, 2008.

GRESSLER, L.T., SILVA, L.L., HEINZMANN, B.M. Anestésicos em animais aquáticos. Santa Maria: Editora UFSM. Baldisserotto, B., Gomes, L.C., Heinzmann, B.M., Cunha, M.A. (Eds.). *Farmacologia aplicada à aquicultura*. 2017.

GUERRA-FLORES, HUMBERTO ET AL. HIBRIDACION DE PACO, *Piaractus brachypomus* (Cuvier, 1818) POR GAMITANA, *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818) EN IQUITOS-PERU. **Folia Amazonica**, v. 4, n. 1, p. 107-114, 1992.

HAJEK, G. J. The anaesthetic-like effect of tea tree oil in common carp *Cyprinus carpio* L. **Aquaculture Research**, v. 42, n. 2, p. 296-300, 2011.

HASHIMOTO, D.T.; SENHORINI, J.A.; FORESTI, F.; PORTO-FORESTI, F. nterspecific fish hybrids in Brazil: management of genetic resources for sustainable use. **Reviews in Aquaculture**, v. 4, n. 2, p. 108-118, 2012.

HONCZARYK, A., & INOUE, L. A. K. A., Anestesia do pirarucu por aspersão da benzocaína diretamente nas brânquias. **Ciência Rural**, v. 40, p. 204-207, 2010.

HONCZARYK, A.; INOUE, L. A. K. A. Anesthesia in pirarucu by eugenol sprays in the gills. **Ciência Rural**, v. 39, n. 2, p. 577-579, 2009

- KIESSLING, A., JOHANSSON, D., ZAHL, I. H., & SAMUELSEN, O. B., 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, 2009.
- LIMA, M. S. Os fluxos de conhecimentos na piscicultura do estado do Amazonas: uma análise da trajetória e das condições institucionais. **ConTexto**, v. 5, n. 8, 2005.
- LOPES, J. M., PASCOAL, L. A. F., SILVA F. F. P., SANTOS, I. B., WATANABE, P. H., MAGALHÃES A. D., HENRIQUE P.W., COSTA, P. D., SANTOS O. P. Farelo de babaçu em dietas para tambaqui. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 11, n. 2, 2010.
- MARICCHIOLO, G.; GENOVESE, L. Some contributions to knowledge of stress response in innovative species with particular focus on the use of the anaesthetics. *The Open Marine Biology Journal*, v. 5, n. 1, p. 24-33, 2011.
- MARTÍNEZ-PORCHAS, M.; MARTINEZ-CORDOVA, L. R.; RAMOS-ENRIQUEZ, R. Cortisol and glucose: reliable indicators of fish stress? **Pan-American Journal of Aquatic Sciences**, p. 158-178, 2009.
- MASSONE, F. Anestesiologia veterinária. Farmacologia e técnicas. Texto e atlas. 2011.
- MERTAS, A., GARBUSIŃSKA, A., SZLISZKA, E., JURECZKO, A., KOWALSKA, M., KRÓL, W., The influence of tea tree oil (*Melaleuca alternifolia*) on fluconazole activity against fluconazole-resistant *Candida albicans* strains. **BioMed Research International**, v. 2015, 2015.
- MOREIRA, A. G. L., TEIXEIRA, E. G., MOREIRA, R. L., FARIAS, W. R. L. Glicose plasmática em juvenis de tilápia do Nilo anestesiados com óleo de cravo. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 12, n. 3, 2011.
- NEIFFER, D. L., STAMPER, M. A. Fish sedation, anesthesia, analgesia, and euthanasia: Considerations, methods, and types of drugs. *ILAR Journal*, v. 50, n. 4, p. 343-360, 2009.
- OLIVEIRA, A.D.S. Avaliação de três anestésicos para espécies de peixes reprodutores utilizando o método de imersão. 2009.
- OLSEN, D.H.; SORENSENA, N.K.; STORMOA, S.K.; ELVEVOLLA, E.O. Effect of slaughter methods on blood spotting and residual blood in fillets of Atlantic salmon (*Salmosalar*). **Aquaculture**, v.258, p.462-469, 2006.
- OLSEN, Y. A., EINARSDOTTIR, I. E., & NILSSEN, K. J. Metomidate anaesthesia in Atlantic salmon, *Salmo salar*, prevents plasma cortisol increase during stress. **Aquaculture**, v. 134, n. 1-2, p. 155-168, 1995.
- PARK, I. S.; GIL, H. W.; LEE, T. H.; NAM, Y. K.; LIM, S. G.; KIM, D. S. Effects of clove oil and lidocaineHCl anesthesia on water parameter during simulated transportation in the marine medaka, *Oryzias dancena*. **Development e reproduction** v. 21, p. 19-33, 2017

PARK, M. O., HUR, W. J., IM, S. Y., SEOL, D. W., LEE, J., & PARK, I. S. Anaesthetic efficacy and physiological responses to clove oil-anaesthetized kelp grouper *Epinephelus bruneus*. **Aquaculture Research**, v. 39, n. 8, p. 877-884, 2008.

PAULA, F. G. D. 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.

PAULA, F.G.et al.2009a. Avaliação econômica do tambaqui (*Colossomamacropomum*), da pirapitinga (*Piaractus brachypomum*) e do híbrido tambatinga (*C. macropomum fêmea* x *P. brachypomum* macho) mantidos em viveiros fertilizados, 2009.

PAULA, F.G.; SILVA, P.C.; OLIVEIRA, R.P. et al. 2009b. Desempenho produtivo dotambaqui (*Colossoma macropomum*), da pirapitinga (*Piaractus brachypomum*) e do híbrido tambatinga (*C. macropomum fêmea* x *P. brachypomum* macho) mantidos em viveiros fertilizados, 2009.

PERDIKARIS, C., NATHANAILIDES, C., GOUVA, E., GABRIEL, U. U., BITCHAVA, K., ATHANASOPOULOU, FOTINI, A., PASCHOS, I. Size-relative effectiveness of clove oil as an anaesthetic for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) and goldfish (*Carassius auratus* Linnaeus, 1758). **Acta Veterinaria Brno**, v. 79, n. 3, p. 481-490, 2010.

POTZERNHEIM, M. C., BIZZO, H. R., SILVA, J. P., VIEIRA, R. F. Chemical characterization of essential oil constituents of four populations of *Piper aduncum* L. from Distrito Federal, Brazil. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 42, p. 25-31, 2012.

PURBOSARI, N., WARSIKI, E., SYAMSU, K., SANTOSO, J. Natural versus synthetic anesthetic for transport of live fish: A review. **Aquaculture and Fisheries**, v. 4, n. 4, p. 129-133, 2019

REZENDE, F. P., PASCOAL, L. M., VIANNA, R. A., LANNA, E. A. T. Sedation of Nile tilapia with essential oils: tea tree, clove, eucalyptus, and mint oils. **Revista Caatinga**, v. 30, p. 479-486, 2017.

RIBAS, L., FLOS, R., REIG, L., MACKENZIE, S., BARTON, B. A., TORT, L. Comparison of methods for anaesthetizing Senegal sole (*Solea senegalensis*) before slaughter: stress responses and final product quality. **Aquaculture**, v. 269, n. 1-4, p. 250-258, 2007.

ROCHA, B. C. G., & VITAL, T. A Piscicultura em Tanque-Rede no Município de Petrolândia-PE: Um Arranjo Produtivo Local em Construção. **Revista em Agronegócio e Meio Ambiente**, v. 5, n. 3, 2012.

ROSS, L. G., ROSS, B. **Anaesthetic and sedative techniques for aquatic animals**. John Wiley & Sons, 2009.

ROSS, L.G.; ROSS, B. (2008) .In:(Ed.). **Anaesthetic and Sedative Techniques for Aquatic Animals**: Blackwell Publishing Ltd.BURKA, J.et al. Drugs insalmonid aquacultureare view. **Journa of Veterinary Pharm acologyand Therapeutics**, v. 20, n.5, p. 333-349, 1997.

- ROTILI, D. A., DEVENS, M. A., DIEMER, O., LORENZ, E. K., LAZZARI, R., BOSCOLO, W. R. Eugenol as anesthetic for *Piaractus mesopotamicus*. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 42, n. 3, 2012.
- ROUBACH, R.; GOMES, L. C. O uso de anestésicos durante o manejo de peixes. **Panorama da Aqüicultura**, v. 11, n. 66, p. 37-40, 2001
- SALBEGO, J., BECKER, A. G., GONÇALVES, J. F., MENEZES, C. C., HELDWEIN, C. G., SPANEVELLO, R. M., V. L. LORO; SCHETINGER M. R. C.; V. M. MORSCH; B. M. HEINZMANN; B. BALDISSEROTTO. The essential oil from *Lippia alba* induces biochemical stress in the silver catfish (*Rhamdia quelen*) after transportation. **Neotropical Ichthyology**, v. 12, p. 811-818, 2014.
- SALES L. M. Os fluxos de conhecimentos na piscicultura do estado do Amazonas: uma análise da trajetória e das condições institucionais. **ConTexto**, v. 5, n. 8, 2005.
- SAMPAIO, F. D., FREIRE, C. A. An overview of stress physiology of fish transport: changes in water quality as a function of transport duration. **Fish and Fisheries**, v. 17, n. 4, p. 1055-1072, 2016.
- SANCHEZ, M.S.S., RODRIGUES, R.A., NUNES A.L., OLIVEIRA, A.M.DAS., FANTINI, L.E., CAMPOS, C.M. Efeito do mentol e eugenol sobre as respostas fisiológicas do pacu *Piaractus mesopotamicus*. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 35, n. 4, p. 2799-2807, 2014.
- SCHOETTGER, RICHARD A.; JULIN, ARNOLD M. **Efficacy of MS-222 as an anesthetic on four salmonids**. US Fish and Wildlife Service, 1967.
- SHARIFI-RAD, J., SALEHI, B., VARONI, E. M., SHAROPOV, F., YOUSAF, Z., AYATOLLAHI, S. A., KOBARFARD, F., SHARIFI-RAD, M., IRITI, M., Plants of the *Melaleuca* genus as antimicrobial agents: From farm to pharmacy. **Phytotherapy Research**, v. 31, n. 10, p. 1475-1494, 2017.
- SILVA, L. D. L., SILVA, D. T. D., GARLET, Q. I., CUNHA, M. A., MALLMANN, C. A., BALDISSEROTTO, B., LONGHI, J. L., PEREIRA, S. M. A., HEINZMANN, B. M. Anesthetic activity of Brazilian native plants in silver catfish (*Rhamdia quelen*). **Neotropical Ichthyology**, v. 11, p. 443-451, 2013.
- SILVA-ACUÑA, ANNIE; GUEVARA, MIGUEL. Evaluación de das dietas comerciales sobre el crecimiento del híbrido de *Colossoma macropomum* x *Piaractus brachypomus*. **Zootecnia Tropical**, v. 20, n. 4, p. 449-459, 2002.
- SMALL, B.C., Anesthetic efficacy of metomidate and comparison of plasma cortisol responses to tricaine methanesulfonate, quinaldine and clove oil anesthetized channel catfish *Ictalurus punctatus*. **Aquaculture**, v. 218, n. 1-4, p. 177-185, 2003.
- SOUZA, J. F. V. D. Atividade anestésica do óleo essencial *Cymbopogon flexuosus* em alevinos de tambatinga. 2017.
- STEHLY, G.R.; GINGERICH, W.H. Evaluation of AQUI-S as an anaesthetic/sedative for public aquaculture in United States. **Aquaculture Research**, v. 30, n. 5, p. 365-372, 1999

SUMMERFELT, R. C.; SMITH, L. S. Anaesthesia, surgery, and related techniques. In: SCHRECK, C. B.; MOYLE, P. B. (Eds.), **Methods for Fish Biology**. American Fisheries Society, Bethesda, MD, pp. 213-272, 1990.

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

ZAHL, I. H., KIESSLING, A., SAMUELSEN, O. B., HANSEN, M. K. Anaesthesia of Atlantic cod (*Gadus morhua*) Effect of pre-anaesthetic sedation, and importance of body weight, temperature and stress. **Aquaculture**, v. 295, n. 1-2, p. 52-59, 2009.

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