

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

ADA FRANÇOINE ANDRADE CUTRIM

**ÓLEO ESSENCIAL DE ALFAVACA E MELALEUCA SOBRE O EFEITO  
ANESTÉSICO EM GUPPY (*POECILIA RETICULATA*)**

CHAPADINHA  
2023

ADA FRANÇOINE ANDRADE CUTRIM

**ÓLEO ESSENCIAL DE ALFAVACA E MELALEUCA SOBRE O EFEITO  
ANESTÉSICO EM GUPPY (*POECILIA RETICULATA*)**

Trabalho apresentado ao Curso de Zootecnia  
da Universidade Federal do Maranhão como  
requisito para obtenção do título de  
Zootecnista

CHAPADINHA  
2023

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

Andrade Cutrim, Ada Françoine.

Óleo essencial de Alfavaca e Melaleuca sobre o efeito anestésico em Guppy / Ada Françoine Andrade Cutrim. - 2023.

32 p.

Orientador(a): Jane Mello Lopes.

Monografia (Graduação) - Curso de Zootecnia, Universidade Federal do Maranhão, Universidade Federal do Maranhão, 2023.

1. Melaleuca alternifolia. 2. Ocimum gratissimum. 3. Peixe ornamental. 4. Sedação. I. Mello Lopes, Jane. II. Título.

ADA FRANÇOINE ANDRADE CUTRIM

**ÓLEO ESSENCIAL DE ALFAVACA E MELALEUCA SOBRE O EFEITO  
ANESTÉSICO EM GUPPY (*POECILIA RETICULATA*)**

Trabalho apresentado ao Curso de Zootecnia  
da Universidade Federal do Maranhão como  
requisito para obtenção do título de  
Zootecnista

Aprovado em: 07 de julho de 2023

Banca examinadora

---

Profa. Dra. Jane Mello Lopes

Universidade Federal do Maranhão

---

Prof. Dr. Alécio Matos Pereira

Universidade Federal do Maranhão

---

Prof. Dr. Gustavo André de Araújo Santos

Universidade Federal do Maranhão

CHAPADINHA  
2023

Dedico aos meus pais, Francisca Maria e Jorge Alan, aos meus irmãos Alayne e Jorge Luís que são a base do meu crescimento.

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus que é meu melhor amigo, por estar sempre ao meu lado tanto nos momentos bons, quanto nos mais difíceis ao decorrer da caminhada, dando-me forças para prosseguir.

Aos meus pais, Jorge Alan Costa Cutrim e Francisca Maria Andrade Cutrim, por todo apoio e esforço feito para que chegasse até aqui, encorajando-me a lutar pelos meus objetivos.

A minha irmã Alayne Andrade Cutrim, que esteve ao meu lado na maior parte do processo de minha formação, ajudando-me e sendo companheira em todos os momentos.

Ao meu irmão Jorge Luís Andrade Cutrim, que mesmo morando longe me deu todo apoio.

A toda minha família e amigos, em especial a minha amiga Maria Ildilene pelo apoio e incentivo.

A minha amiga Laís Lourenço, por seu companheirismo e incentivo no tempo que podemos passar juntas estudando. A sua mãe e irmãs, por todo apoio.

Ao Centro de Ciências Agrárias e Ambientais (CCAA) da Universidade Federal do Maranhão (UFMA), campus Chapadina-MA, por dar-me a oportunidade de me tornar zootecnista.

A minha orientadora Jane Mello Lopes, da qual tive o prazer de ser orientada, por seus ensinamentos com paciência e compreensão, por auxiliar-me no processo de conclusão de curso dando-me todo apoio necessário.

Ao prof. Dr. Alécio Matos Pereira e prof. Dr. Gustavo André Araújo Santos, por se dispuserem a fazer parte da minha Banca examinadora, sendo para mim uma honra.

Aos alunos participantes do grupo Pescado, Pereira, Gildean, Josy, Gabriela e Thiago, que juntos comigo, estiveram empenhados na realização deste trabalho.

Aos docentes do CCAA, que colaboraram com meu aprendizado durante o processo de formação acadêmica.

Aos funcionários da UFMA-CCAA, que de alguma forma cooperaram para o funcionamento da universidade.

Meus sinceros agradecimentos a todos!

“Ora, a fé é o firme fundamento das coisas que se esperam, e a prova das coisas que se não veem”.

Hebreus 11:1

## RESUMO

Aproximadamente 90% dos espécimes ornamentais de água doce no Brasil são criados em cativeiro. Rotineiramente, os peixes são expostos a diversos agentes estressores, causando distúrbios ou a perda dos animais. Nesse sentido, o uso de substâncias anestésicas tem visado reduzir o estresse durante as atividades rotineiras. Assim, objetivou-se avaliar o efeito sedativo e anestésico dos óleos essenciais (OEs) de Alfavaca (*Ocimum gratissimum*) e Melaleuca (*Melaleuca alternifolia*) sobre Guppy (*Poecilia reticulata*). Foram testadas quatro concentrações do óleo de Alfavaca (40, 60, 80, 150  $\mu\text{L/L}$ ) e quatro concentrações do óleo de Melaleuca (80, 100, 150, 200  $\mu\text{L/L}$ ). As concentrações foram diluídas em etanol (1:10) e o etanol foi usado como tratamento controle (1800  $\mu\text{L/L}$ ). Foram utilizados 5 peixes para cada tratamento coletados aleatoriamente nas caixas de estocagem e submetidos individualmente ao banho anestésico, totalizando 45 animais. O tempo máximo de exposição ao óleo foi de 30 minutos e o tempo de indução em cada estágio foi monitorado por meio de um cronômetro digital. A determinação dos estágios anestésicos foi realizada observando o comportamento dos peixes, como perda de resposta a estímulos externos e nado errático. A avaliação da resposta a ação de estímulos externos foi realizada utilizando um bastão de vidro para tocar a cauda do animal. Os parâmetros físico-químicos da água foram avaliados durante os 30 minutos de exposição aos OEs. Foram avaliados temperatura, oxigênio dissolvido e pH. A adição de etanol diluído em água na concentração de 1800  $\mu\text{L/L}$  (Tratamento controle) não induziu efeito sedativo ou anestésico nos peixes. Entretanto, ambos os OEs causaram sedação e anestesia em todas as concentrações testadas. A concentração de 150  $\mu\text{L/L}$  do OE de Alfavaca e 150  $\mu\text{L/L}$  e 200  $\mu\text{L/L}$  do OE de Melaleuca são mais efetivas em relação ao tempo de resposta para o guppy. Ambos os óleos essenciais se mostraram seguros para uso como anestésicos, pois não foi observada mortalidade durante 24 horas de observação ou após a exposição.

**Palavras-chave:** Sedação. *Ocimum gratissimum*. *Melaleuca alternifolia*. peixe ornamental



## ABSTRACT

Approximately 90% of freshwater ornamental specimens in Brazil are bred in captivity. Routinely, fish are exposed to several stressors, causing disorders or loss of animals. In this sense, the use of anesthetic substances has aimed to reduce stress during routine activities. Thus, the objective was to evaluate the sedative and anesthetic effect of essential oils (EOs) of Alfavaca (*Ocimum gratissimum*) and Melaleuca (*Melaleuca alternifolia*) on Guppy (*Poecilia reticulata*). Four concentrations of Alfavaca oil (40, 60, 80, 150  $\mu\text{L/L}$ ) and four concentrations of Melaleuca oil (80, 100, 150, 200  $\mu\text{L/L}$ ) were tested. Concentrations were diluted in ethanol (1:10) and ethanol was used as a control treatment (1800  $\mu\text{L/L}$ ). Five fish were used for each treatment, randomly collected in the storage boxes and individually submitted to anesthetic bath, totaling 45 animals. The maximum time of exposure to the oil was 30 minutes and the induction time in each stage was monitored using a digital timer. The determination of anesthetic stages was performed by observing the behavior of the fish, such as loss of response to external stimuli and erratic swimming. The evaluation of the response to the action of external stimuli was performed using a glass stick to touch the animal's tail. The physical-chemical parameters of the water were evaluated during the 30 minutes of exposure to the EOs. Temperature, dissolved oxygen and pH were evaluated. The addition of ethanol diluted in water at a concentration of 1800  $\mu\text{L/L}$  (Control treatment) did not induce a sedative or anesthetic effect in the fish. However, both EOs caused sedation and anesthesia at all tested concentrations. The concentration of 150  $\mu\text{L/L}$  of Alfavaca EO and 150  $\mu\text{L/L}$  and 200  $\mu\text{L/L}$  of Melaleuca EO are more effective in relation to the response time for the guppy. Both essential oils proved to be safe for use as anesthetics, as no mortality was observed during 24 hours of observation or after exposure.

**Keywords:** Sedation. *Ocimum gratissimum*. *Melaleuca alternifolia*. Ornamental fish

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>10</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>12</b>
2.1	Geral .....	12
2.2	Específicos .....	12
<b>3</b>	<b>REVISÃO DA LITERATURA</b> .....	<b>13</b>
3.1	Fatores estressantes na piscicultura .....	13
3.2	Uso de anestésicos na piscicultura .....	13
3.3	Guppy ( <i>Poecilia reticulata</i> ) .....	14
3.4	Óleo essencial de Alfavaca ( <i>Ocimum gratissimum</i> ) .....	15
3.5	Óleo essencial de Melaleuca ( <i>Melaleuca alternifolia</i> ).....	16
<b>4</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>18</b>
4.1	Manejo com os animais.....	18
4.2	Obtenção dos óleos.....	18
4.3	Indução a anestesia e recuperação .....	19
4.4	Avaliação da qualidade da água.....	20
4.5	Análise estatística .....	20
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>21</b>
<b>6</b>	<b>CONCLUSÕES</b> .....	<b>26</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>26</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A piscicultura ornamental no Brasil é uma atividade de ganho considerável para muitas comunidades ribeirinhas próximas da bacia amazônica e em outras regiões do Brasil, onde no ano de 2019 a exportação brasileira de peixes ornamentais rendeu cerca de 6.790 (Mil U\$), segundo Embrapa Pesca e Aquicultura (2020). Aproximadamente 90% de espécimes ornamentais de água doce comercializados no país são criados em cativeiro (SOMMERVILLE et al., 2016; FARIA et al., 2016).

Rotineiramente, os animais são expostos a agentes estressores diversos, como na biometria, no transporte, alta densidade, manejo geral, entre outros fatores, que causam distúrbios ou mesmo a perda dos animais (SAMPAIO & FREIRE, 2016). O estresse é um fator que interfere diretamente no equilíbrio natural dos peixes, causando instabilidade na sua homeostase. Diante disso, estudos vêm sendo realizados com substâncias anestésicas em várias espécies de peixes, com a finalidade de diminuir o estresse durante as atividades de rotina (BITTENCOURT et al., 2013; BERTOZI-JÚNIOR et al., 2014).

A utilização de anestesia nas atividades de rotina em peixes é importante para garantir animais mais saudáveis, proporcionar bem-estar e permitir a prevenção de danos físicos, lesões durante o manejo na piscicultura ou para fins de pesquisa (Z AHL et al., 2012; BENOVI T et al., 2015).

Os anestésicos utilizados são classificados em sintéticos ou naturais. Dentre os sintéticos mais utilizados estão a triclaína metanosulfonato (MS-222), benzocaína, 2-fenoxietanol, quinaldina e propofol (BOLASINA et al., 2017; PURBOSARI et al., 2019; SOUZA et al., 2019; UEHARA et al., 2019). Porém, muitos desses, alteram os parâmetros fisiológicos dos peixes como depressão da função cardiovascular e respiratória, aumento do lactato, níveis elevados de catecolaminas e inibição da síntese de cortisol, além de deixar resíduos em peixes, humanos e no ambiente (CARTER et al., 2011; Z AHL et al., 2012; PURBOSARI et al., 2019; AYDIN & BARBAS, 2020). Portanto, novos estudos com anestésicos naturais podem apresentar resultados satisfatórios, eficácia em baixa concentração, rápida recuperação dos animais, redução no estresse e mortalidade dos peixes, além de apresentar baixos níveis de resíduos.

Os óleos essenciais de plantas por serem voláteis e não deixarem resíduos tóxicos no ambiente, apresentam boa alternativa ambiental (PARK et al., 2011). Vários

estudos tem apresentado bons resultados como anestésicos para peixes usando espécies de plantas da família Verbenaceae como *Lippia alba*, *Lippia origanoides*, *Lippia sidoides* e *Aloysia triphylla* (DA CUNHA et al., 2010; GRESSLER et al., 2014; TONI et al., 2014; SILVA et al., 2018; SOUZA et al., 2018; SILVA et al., 2019), da família Lamiaceae como *Ocimum gratissimum*, *Mentha piperita* e *Mentha arvensis* (SILVA et al., 2012; PEDRAZZANI & OSTRENSKY NETO, 2016; BOIJINK et al., 2016; SPANGHERO et al., 2019).

Neste contexto, analisamos os óleos essenciais de Alfavaca e Melaleuca como anestésicos naturais, considerando poucos estudos nesta área voltados para o Guppy.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Geral**

Avaliar o efeito sedativo e anestésico dos óleos essenciais de Alfavaca (*Ocimum gratissimum*) e Melaleuca (*Melaleuca alternifolia*) em Guppy (*Poecilia reticulata*).

### **2.2 Específicos**

Definir as concentrações ideais do uso dos óleos de Alfavaca e Melaleuca como sedativo e anestésico para o Guppy;

Avaliar a qualidade da água e a sobrevivência dos guppys durante a exposições a concentrações diferentes a ambos os óleos.

### **3 REVISÃO DA LITERATURA**

#### **3.1 Fatores estressantes na piscicultura**

A permanência dos peixes em ambientes no quais os fatores como variáveis da qualidade da água e manejo inapropriado pode conduzi-los a uma situação de estresse resultam em alteração do sistema imunológico, baixo crescimento e sobrevivência (ADAMANTE, et al., 2008). As causas de estresse em peixes estão relacionadas a fatores ambientais e de manejo, como captura, transporte (LUZ & PORTELA, 2005; ABREU et al., 2009). Quando os animais são submetidos à captura, seja ela realizada por redes, anzóis ou puçás, os peixes tendem à fuga, passam por posterior exposição aérea, resultando, entre outras respostas, no aumento da concentração de lactato e íons H<sup>+</sup> no músculo, que podem ser identificados na corrente sanguínea, além de elevadas concentrações de cortisol e glicose (INOUE, et al., 2008).

#### **3.2 Uso de anestésicos na piscicultura**

A utilização de anestesia nas atividades de rotina em peixes é importante para garantir animais mais saudáveis, proporcionar bem-estar e permitir a prevenção de danos físicos, lesões durante o manejo na piscicultura ou para fins de pesquisa (Z AHL et al., 2012; BENOVI T et al., 2015). Os anestésicos são usados para facilitar o manuseio durante a biometria, desova artificial, vacinação, triagem de amostras, biópsia, coleta de sangue, cirurgia, rotulagem, transporte e para eutanásia (MARICCHIOLO & GENOVESE, 2011; JAVAHERY et al., 2012).

Concentrações ideais de anestésicos apropriados são previstos para minimizar os efeitos deletérios do estresse em peixes (ROOHI & IMANPOOR, 2015). Um anestésico adequado deve tornar os peixes rapidamente imobilizados e resultar em recuperação sem intercorrências. Além disso, deve apresentar alta potência, ser amplamente disponível, custo acessível e apresentar baixa ou nenhuma toxicidade. Os anestésicos não devem se acumular nos tecidos e órgãos dos peixes e causar problemas para o consumo humano ou animal. Adicionalmente, a excreção dos anestésicos do corpo do peixe deve ser rápida (MYLONAS et al., 2005; JAVAHERY

et al., 2012; AZAD et al., 2014; ROOHI & IMANPOOR, 2015).

Os anestésicos para peixes podem ser divididos nas categorias de produtos sintéticos ou naturais (à base de plantas). Entre os anestésicos sintéticos mais usados estão: 2-fenoxietanol, tricaína metanossulfonato (MS- 222), benzocaína, metomidato, etomidato, sulfato de quinaldina, propofol e cloridrato de cetamina. Alguns dos quais foram relatados como caros, estressores ou que desencadeiam efeitos colaterais indesejáveis, como aumento do tônus muscular, comportamento agitado, ou seja, hiperatividade, hipersecreção de muco, danos na córnea e irritação da pele e brânquias (MIRGHAED et al., 2016; CUNHA et al., 2017; TEIXEIRA et al., 2017).

Considerando os efeitos adversos dos anestésicos sintéticos no meio ambiente e na fisiologia dos peixes, o uso de anestésicos naturais à base de plantas tornou-se uma alternativa para a indústria aquícola em substituição às substâncias sintéticas (MIRGHAED et al., 2018b). Neste sentido, a determinação dos efeitos anestésicos de vários óleos essenciais (OEs) obtidos a partir das folhas, flores, brotos, caules e raízes das plantas tem sido objetivo de muitos esforços de pesquisa, que tiram conclusões principalmente com base em ensaios de dose-resposta. Portanto, nos últimos anos, pesquisas e esforços têm sido feitos para investigar os efeitos sedativos e anestésicos das propriedades dos OEs (MIRGHAED et al., 2016; BIANCHINI et al., 2017; YOUSEFI et al., 2018a).

### 3.3 Guppy (*Poecilia reticulata*)

Figura 1. Guppy



Fonte: Bing imagens

O Guppy, também conhecido como lebiste ou barrigudinho (Figura 1), é uma das espécies de peixes ornamentais mais difundidas em todo o mundo, pertence à família dos Poeciliidae (Poecilídeos) da qual também fazem parte os Molinésias, Platys e Espadas. Originário do norte da América do Sul foi introduzido no Brasil no século XIX e hoje constitui uma das espécies mais conhecidas da piscicultura ornamental (ALVES et al., 2000). Atualmente a sua produção vem ganhando destaque no ramo da Aquariofilia, sendo considerada uma das espécies ícones do aquarismo com grande aceitação e popularidade por parte de seus praticantes em todo o mundo (RIBEIRO et al., 2010).

A espécie se destaca, por ser altamente prolífera e resistente aos manejos diários da piscicultura, o que lhe caracteriza também ser uma espécie de fácil manuseio em produção. É muito procurado para embelezar os ambientes, pela grande diversidade de cores e linhagens existentes dentro da espécie, características fundamentais para uma espécie ornamental de grande valor. Os machos são menores, alcançando o tamanho de 30 mm aproximadamente, são multicoloridos, e mais coloridos do que as fêmeas. As fêmeas são maiores, alcançando 60 mm. Seu hábito alimentar é onívoro, sendo capaz de se alimentar de tudo. No Brasil, na década de 30, foram amplamente utilizados para combater os transmissores da malária e da febre amarela. São também utilizados em laboratórios, nos experimentos ecotoxicológicos, genéticos, comportamentais e reprodutivos (KLIMA NATURALI, 2011).

#### 3.4 Óleo essencial de Alfavaca (*Ocimum gratissimum*)

Figura 2. Alfavaca



Fonte: Bing imagens



A Alfavaca é uma planta arbustiva pertencente à família Lamiaceae e nativa de áreas tropicais da Ásia e da África Ocidental (Figura 2). Tem sido amplamente cultivada em vários países, dentre eles o Brasil, sendo utilizada para fins culinários e medicinais no tratamento de várias doenças como doenças de pele, dores abdominais, infecções de ouvido, entre outros. O óleo é obtido por destilação a vapor das partes aéreas (folhas e flores) ricas em óleos essenciais (PRABHU et al., 2009).

Em relação a composição do óleo essencial de Alfavaca foi demonstrado vários constituintes desse óleo, porém, os monoterpenos são os componentes majoritários de grande interesse de pesquisadores, em especial o eugenol e 1,8-cineol mais relevantes em peixes devido a suas propriedades fitoterápicas, antibacterianas e antifúngicas (DOS SANTOS et al., 2021; EVANGELISTA, 2020).

Recentemente, Boaventura e colaboradores, (2022) realizaram um estudo avaliando a Alfavaca como anestésico durante o manejo e transporte de juvenis de pacamã (*Lophiosilurus alexandri*) e sua influência sobre os parâmetros sanguíneos e estresse oxidativo. Verificaram que as concentrações 90 e 150 µL/L do OE de Alfavaca causaram indução anestésica em menos de 3 minutos e recuperação em menos de 5 minutos, intervalos estes considerados ideais.

### 3.5 Óleo essencial de *Melaleuca* (*Melaleuca alternifolia*)

Figura 3. *Melaleuca*



Fonte: Bing imagens

A *Melaleuca* é um arbusto nativo da Austrália (Figura 3), que tem sido cultivada em vários países incluindo o Brasil, principalmente nas regiões sul e sudeste brasileiro (JESUS et al., 2007) devido seus efeitos positivos como fitoterápico. O

processo de extração do óleo ocorre principalmente por destilação a vapor. A parte anatômica da planta que vem se destacando é a folha, onde é extraído o óleo essencial com seus principais princípios ativos responsáveis pelas propriedades antimicrobianas (KIM et al., 2004; SOUZA et al., 2016).

Os compostos encontrados no óleo de *Melaleuca* são diversos, no entanto, os monoterpenos têm sido o principal alvo dos estudos (CARSON et al., 2006). O terpinen-4-ol é o principal constituinte e o mais estudado devido sua alta concentração e por apresentar propriedades antimicrobianas e anti-inflamatórias (COX et al., 2001; GAROZZO et al., 2009; SILVA et al., 2019).

Em jundiá (*Rhamdia quelen*), Souza e colaboradores (2018) testaram o óleo essencial de *Melaleuca* e seus principais compostos terpinen-4-ol,  $\gamma$ -terpineno e  $\alpha$ -terpineno, sobre os efeitos anestésico e sedativo. Os autores observaram uma redução no tempo de indução anestésica a medida que se aumentou as concentrações do óleo de *Melaleuca* e terpinen-4-ol. Os peixes atingiram sedação e anestesia profunda ao serem expostos a concentração de 50  $\mu\text{L/L}$  e entre 500 e 1000  $\mu\text{L/L}$  para *melaleuca*, respectivamente. Todos os peixes expostos ao terpinen-4-ol atingiram sedação e anestesia profunda nas concentrações de 42  $\mu\text{L/L}$  e entre 200 a 420  $\mu\text{L/L}$  para terpinen-4-ol, respectivamente.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Laboratório de Piscicultura da Universidade Federal do Maranhão, Campus Chapadinha, no Estado do Maranhão.

### 4.1 Manejo com os animais

Os animais foram doados ao laboratório de Piscicultura do CCCh e quando chegaram foram mantidos até o início dos experimentos em caixa plástica de 1000L na área externa do setor, recebendo alimentação uma vez por dia (Figura 4).

Figura 4: Local de estocagem dos peixes no setor de piscicultura.



Fonte: Autor

O protocolo experimental deste estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética e Bem-Estar Animal da UFMA sob o número de registro 23115.004974 /2018-46.

### 4.2 Obtenção dos óleos

O óleo de Melaleuca utilizado no experimento foi um óleo comercial. Segundo o fabricante o óleo foi extraído por meio de destilação por arraste a vapor d'água, sendo utilizadas as partes dos ramos e folhas, obtendo uma composição 100% pura e orgânica.

O óleo de Alfavaca (*Ocimum Gratissimum*) foi extraído das folhas colhidas no município de Axixá estado do Maranhão e o método utilizado para a extração também foi a hidrodestilação, realizada no Laboratório de Química de Produtos

Naturais (LQPN) da Universidade Federal do Maranhão. Número do Cadastro do SisGen: *Ocimum gratissimum* = AA69F9B. O óleo de Alfavaca foi doado pelo LQPN/UFMA para a realização deste experimento.

### 4.3 Indução a anestesia e recuperação

Na avaliação do tempo de indução à anestesia e recuperação utilizou-se aquários plásticos contendo 1L de água continuamente aerada (Figura 5). Foram testadas quatro concentrações do óleo de Alfavaca (40, 60, 80, 150  $\mu\text{L/L}$ ) e quatro concentrações do óleo de Melaleuca (80, 100, 150, 200  $\mu\text{L/L}$ ). As concentrações foram previamente diluídas em etanol (1:10) e o etanol foi utilizado como tratamento controle na maior concentração testada (1800  $\mu\text{L/L}$ ).

Foram utilizados quarenta e cinco animais, sendo que para cada tratamento foram usados cinco peixes ( $n=5$ ) coletados aleatoriamente nas caixas de estocagem e submetidos individualmente ao banho anestésico. Cada peixe foi usado apenas uma vez, e o tempo máximo de exposição ao óleo foi de 30 minutos. O tempo de indução a cada estágio foi monitorado por meio de um cronômetro digital.

Figura 5: Aquários que foram utilizados durante os experimentos com os guppys



Fonte: Autor

A determinação dos estágios anestésicos foi realizada pela observação do comportamento dos peixes como a perda de resposta a estímulos externos e o nado errático. A avaliação da resposta a ação de estímulos externos foi realizada utilizando um bastão de vidro para tocar a cauda do animal de uma forma firme, porém sem

agressão. Os estágios de indução à anestesia (Tabela 1) avaliados neste estudo foram adaptados de Small (2003).

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

Estágio	Comportamento característico
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 de nado e da capacidade de nadar

Fonte: Adaptado de SMALL, (2003)

Após a indução ao anestésico ou ao tempo máximo de observação, os peixes foram transferidos para aquários (1L), livres dos óleos essenciais, para observação do tempo de recuperação. Foram considerados recuperados quando os mesmos apresentaram natação normal e resposta de reação a estímulos externos. O tempo máximo de observação da recuperação foi de 30 minutos.

Após a recuperação, os animais foram pesados e agrupados de acordo com o protocolo anestésico e transferidos para caixas de 150L onde foram observados por 24h, em relação a comportamento anormal ou mortalidade.

#### 4.4 Avaliação da qualidade da água

Os parâmetros físico-químicos da água foram avaliados durante os 30 minutos de exposição aos OEs. Foram avaliados a temperatura, o oxigênio dissolvido e o pH.

A temperatura e os níveis de oxigênio dissolvido foram avaliados com auxílio de um oxímetro digital (HANNA, T160) e o pH da água com pHmetro digital (DMPH-2 pH).

#### 4.5 Análise estatística

Para a análise estatística, foi realizado a análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de tukey a 5% de significância.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores em relação aos parâmetros da qualidade da água deste estudo, se mantiveram adequados para as espécies de água doce em ambientes tropicais (LEIRA et al., 2017). Os valores de pH se mantiveram em média 4,8, a concentração de oxigênio dissolvido permaneceu em torno de 5,2 mg/L e a temperatura média da água dos aquários em 28,5 °C, durante a realização dos experimentos.

Para a sobrevivência dos peixes o pH não deve estar em faixas abaixo de 4,5 ou acima de 10, podendo ocorrer mortalidades nestes níveis. O oxigênio dissolvido (OD) é a variável mais importante quando se trata de peixe, sendo indispensável para o crescimento e sobrevivência dos animais (BALDISSEROTTO e GOMES, 2005). Valores ideais de OD devem permanecer acima de 4 mg/L, valores inferiores a esse deixam os peixes estressados e em situações extremas, podem ocasionar a morte dos animais. A temperatura é outro fator muito importante devido todas as atividades fisiológicas dos peixes estarem inteiramente ligadas a temperatura da água. Peixes de águas tropicais vivem bem com temperaturas entre 20 e 28 °C, porém em temperaturas superiores a 32 °C podem ocorrer a morte dos peixes (LIMA et al., 2013; LEIRA et al., 2017).

Em nenhum dos tratamentos testados com os guppys foi observada mortalidade durante ou após a execução dos experimentos. Semelhante ao nosso estudo, Da Silva et al., (2020) ao avaliar os óleos essenciais de Melaleuca e Alfavaca em Lambari (*Astyanax bimaculatus*) não observaram mortalidade durante as etapas experimentais ou 24h após o término do estudo, o que indica que os OEs Melaleuca e Alfavaca podem ser uma alternativa segura como anestésicos em guppys.

A adição do etanol diluído em água na concentração de 1800 µl/L (Tratamento controle), não induziu nenhum efeito sedativo ou anestésico nos peixes. Em contrapartida, os dois óleos experimentais causaram sedação e anestesia em todas as concentrações testadas. Estes resultados corroboram aos encontrados por Correia et al., (2015) em peixes-palhaços (*Amphiprion clarkii*), submetidos aos OEs Melaleuca e Alfavaca como anestésicos e analgésicos. Em que em todas as concentrações testadas causaram anestesia e analgesia nos animais.

Em relação a sedação (E1), o OE de Alfavaca não apresentou diferença significativa ( $p > 0,05$ ) entre as concentrações de 40, 60 e 80  $\mu\text{L/L}$ , contudo observou-se que o aumento da concentração para 150  $\mu\text{L/L}$  induziu uma resposta mais rápida em relação as concentrações 40 e 60  $\mu\text{L/L}$  (Tabela 2).

Tabela 2. Tempo (s) de sedação, anestesia e recuperação dos guppys submetidos ao óleo essencial de Alfavaca

ÓLEO DE ALFAVACA			
CONCENTRAÇÃO ( $\mu\text{l}$ )	SEDAÇÃO (min)	ANESTESIA (min)	RECUPERAÇÃO (min)
40	16,8 A	13,7 A	8,3 A
60	11,4 A	12,4 A	9,5 A
80	8,6 AB	12,3 A	5,9 B
150	5,2 B	8,5 B	> 30 min
CV (%)	27,57	14,52	4,01

Letras maiúsculas nas colunas representam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre as diferentes concentrações para o mesmo óleo pelo teste tukey. CV = Coeficiente de variação

Fonte: Autor

No trabalho realizado com o princípio ativo da Alfavaca (Eugenol) como anestésico para juvenis de Oscar (*Astronotus ocellatus*) nas concentrações 40, 60, 80 e 100 mg/L, recomenda-se a dose de 80 mg/L por induzir a sedação de forma mais rápida dentro da margem de segurança (SILVA-SOUZA et al., 2015).

Todas as concentrações testadas do óleo de Melaleuca (Tabela 3) provocaram efeito sedativo apresentando diferença significativa entre os tempos de sedação a medida que se aumentou a concentração do óleo. O menor tempo registrado foi de 5 minutos na concentração 200  $\mu\text{L/L}$ .

Tabela 3. Tempo (s) de sedação, anestesia e recuperação dos guppys submetidos ao óleo de Melaleuca

ÓLEO DE MELALEUCA			
CONCENTRAÇÃO (µl)	SEDAÇÃO (min)	ANESTESIA (min)	RECUPERAÇÃO (min)
80	15,2 A	10,12 A	2,85 B
100	11,3 A	13,1 A	2,68 B
150	4,8 B	8,2 A	4,43 A
200	5,6 B	7,6 A	4 A
CV (%)	23,39	64,98	15,5

Letras maiúsculas nas colunas representam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entres as diferentes concentrações para o mesmo óleo pelo este tukey. CV = Coeficiente de variação

Fonte: Autor

O estudo de Hajek, (2011) demonstrou que a menor concentração testada do óleo de Melaleuca (200 µl/L) causou sedação e anestesia de Carpa comum (*Cyprinus carpio* L.) em 11 minutos, tempo bem acima do observado com os guppys (máx. 7 min). Esta diferença pode estar relacionada a variações individuais das espécies. A anestesia de peixes pode ser afetada por fatores biológicos, tais como as diferenças entre as espécies (formato do corpo, tamanho da área branquial) e intraespecíficas, que são as diferenças de tamanho, variações na taxa metabólica e quantidade de gordura corporal (ROUBACH, 2001).

A indução a anestesia (E2) com o óleo de Alfavaca administrado em guppys com média de peso de 0,024 g, nas concentrações de 40, 60 e 80 µl/L diferiram estatisticamente ( $p < 0,05$ ) da maior concentração (150 µl/L) testada. Em 150 µl/L de Alfavaca, observou-se um tempo menor de indução anestésica (8 minutos) em relação as demais concentrações (Tabela 2). Similar aos nossos resultados, o estudo de Ribeiro e colaboradores, (2016) não observaram diferenças significativas entre os tempos de indução anestésica nas concentrações entre 40 e 80 µl/L com OE de Alfavaca administrado em juvenis de Matrinxã. Segundo estes autores as concentrações que foram mais eficientes para indução a anestesia foram acima de 40 µl/L, descrevendo a concentração de 60 µl/L do OE como a que proporcionou anestesia mais rápida. É possível que a diferença de tempo na indução anestésica nas mesmas concentrações esteja ligada a espécie de peixe e fisiologia do guppy.



Em relação ao tempo de indução a anestesia de Melaleuca (Tabela 3) administrado em guppys com média de peso de 0,017 g, observou-se que as concentrações testadas não diferiram estatisticamente entre si ( $p > 0,05$ ), apresentando menor tempo nas concentrações 150 e 200  $\mu\text{L/L}$  (8 e 7 minutos, respectivamente). Diferente dos nossos resultados, Souza e colaboradores (2018) observaram que o OE de Melaleuca e seus principais compostos (terpinen-4-ol,  $\gamma$ -terpineno e  $\alpha$ -terpineno), apresentaram efeito anestésico em Jundiá (*Rhamdia quelen*) mais rápido nas concentrações mais altas. Todos os peixes expostos ao OE de Melaleuca atingiram anestesia profunda nas concentrações entre 500 e 1.000  $\mu\text{L/L}$  (cerca de 5 e 3 minutos), e concentrações entre 200 e 420  $\mu\text{L/L}$  (cerca de 10 e 1 minuto) para terpinen-4-ol (principal constituinte ativo da Melaleuca). Provavelmente esta diferença esteja relacionada as concentrações testadas para os guppys. É possível que para a espécie também seja mais eficiente em relação ao tempo de resposta a anestesia, as concentrações acima de 150  $\mu\text{L/L}$  do OE de Melaleuca.

As concentrações de 40 e 60  $\mu\text{L/L}$  em relação ao tempo de recuperação (E3) com OE de Alfavaca não apresentaram diferenças significativas entre si ( $p > 0,05$ ). O menor tempo observado foi na concentração 80  $\mu\text{L/L}$  com valores em torno de 5 minutos. Os animais submetidos a concentração de 150  $\mu\text{L/L}$  alcançaram tempo de retorno superior a 30 minutos (tempo máximo de observação). Honorato e colaboradores (2016), ao estudarem o Kinguio (*Carassius auratus*) submetido as concentrações do Eugenol (constituente majoritário da Alfavaca), descobriram que ao aumentarem a dose em 150  $\mu\text{L/L}$  houve uma resposta mais rápida dos peixes em relação a anestesia, no entanto o tempo de recuperação também aumentou sendo superior a 10 minutos (tempo máximo recomendado pela literatura). Para Neiffer e Stamper (2009), a recuperação maior que 10 minutos pode indicar uma dose excessiva ou um animal comprometido fisiologicamente.

Em relação ao tempo de recuperação dos guppys ao OE de Melaleuca, as concentrações de 150 e 200  $\mu\text{L/L}$  foram equivalentes, contudo diferiram estatisticamente ( $p < 0,05$ ) das concentrações de 80 e 100  $\mu\text{L/L}$  (menor que 4 minutos) (tabela 3). Correia e colaboradores, (2015) ao avaliarem a eficiência anestésica e analgésica da Melaleuca e outros dois OEs sobre juvenis de Peixe-palhaço, observaram que todas as concentrações de Melaleuca (200, 300, 400, 500 e 600  $\mu\text{L/L}$ ) em relação ao tempo de recuperação apresentaram tempos inferiores a 1,5 minutos, tempo abaixo do limite recomendado pela literatura para retorno da anestesia (5

minutos) segundo Ross e Ross (2008). No presente estudo, observamos resultados aproximados a estes com rápida recuperação nas concentrações de 150 e 200  $\mu\text{l/L}$  (em torno de 4 minutos) (Tabela 3).

## 6 CONCLUSÕES

O óleo essencial de Melaleuca e Alfavaca apresentam efeito positivo como sedativo e anestésico para os guppys (*Poecilia reticulata*). A concentração de 150 µl/L do óleo essencial de Alfavaca e de 150 µl/L e 200 µl/L do óleo essencial de Melaleuca são mais efetivas em relação ao tempo de resposta a anestesia para a espécie.

Ambos os óleos essenciais não alteram a qualidade da água durante os experimentos e se mostram seguros para o uso como anestésicos, pois não foi observado mortalidade dos animais durante 24h de observação ou após a exposição aos óleos.

## REFERÊNCIAS

- ABREU, J. S. et al. Biological indicators of stress in pacu (*Piaractus mesopotamicus*) after capture. **Brazilian Journal of Biology**, v. 69, p. 415-421, 2009.
- ADAMANTE, W. B. et al. Stress in *Salminus brasiliensis* fingerlings due to different densities and times of transportation. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 60, p. 755-761, 2008.
- ALVES, Dimitri R. et al. Ocorrência de *Camallanus cotti* (Nematoda: Camallanidae) parasitando o guppy *Poecilia reticulata* (Osteichthyes: Poeciliidae) no Brasil. **Revista Universidade Rural, Série Ciências da Vida**, v. 22, p. 77-79, 2000.
- AYDIN, Baki; BARBAS, Luis André L. Sedative and anesthetic properties of essential oils and their active compounds in fish: A review. **Aquaculture**, v. 520, p. 734999, 2020.
- AZAD, I. S.; AL-YAQOUT, A.; AL-ROUMI, M. Antibacterial and immunity enhancement properties of anaesthetic doses of thyme (*Thymus vulgaris*) oil and three other anaesthetics in *Sparidentax hasta* and *Acanthopagrus latus*. **Journal of King Saud University-Science**, v. 26, n. 2, p. 101-106, 2014.
- BALDISSEROTTO, B.; GOMES, L. C. **Espécies nativas para piscicultura no Brasil**. Santa Maria: Ed. UFMS, p. 470, 2005.

BENOVIT, Simone C. et al. Anesthetic activity and bio-guided fractionation of the essential oil of *Aloysia gratissima* (Gillies & Hook.) Tronc. in silver catfish *Rhamdia quelen*. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 87, p. 1675-1689, 2015.

BERTOZI JUNIOR, M. et al. Benzocaine and eugenol as anesthetic for *Pimelodus britskii* ('mandi-pintado') juveniles. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias (Agrária)**, v. 9, n. 1, p. 134-138, 2014.

BIANCHINI, A. E. et al. Monoterpenoids (thymol, carvacrol and S-(+)-linalool) with anesthetic activity in silver catfish (*Rhamdia quelen*): evaluation of acetylcholinesterase and GABAergic activity. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 50, 2017.

BITTENCOURT, Fábio et al. Eugenol e benzocaína como anestésicos para juvenis de *Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758 (carpa comum). **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 8, n. 1, p. 163-167, 2013.

BOAVENTURA, Tulio P. et al. The use of *Ocimum gratissimum* L. essential oil during the transport of *Lophiosilurus alexandri*: Water quality, hematology, blood biochemistry and oxidative stress. **Aquaculture**, v. 531, p. 735964, 2021.

BOAVENTURA, Tulio Pacheco et al. Uso do óleo essencial de *Ocimum gratissimum* L durante anestesia e transporte do pacamã *Lophiosilurus alexandri*: hematologia, bioquímica e estresse oxidativo, 2022.

BOLASINA, Sergio Néstor; DE AZEVEDO, Alexandre; PETRY, Ana Cristina. Comparative efficacy of benzocaine, tricaine methanesulfonate and eugenol as anesthetic agents in the guppy *Poecilia vivipara*. **Aquaculture Reports**, v. 6, p. 56-60, 2017.

CARSON, Christine F.; HAMMER, Katherine A.; RILEY, Thomas 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.

CARTER, Kathleen M.; WOODLEY, Christa M.; BROWN, Richard S. A review of tricaine methanesulfonate for anesthesia of fish. **Reviews in fish biology and fisheries**, v. 21, p. 51-59, 2011.

CORREIA, Alcinéa Malzete et al. Uso dos óleos essenciais *Eugenia caryophyllata*, *Melaleuca alternifolia* e *Ocimum basilicum* como anestésicos e analgésicos em peixes-palhaços *Amphiprion clarkii*. 2015.

COX, S. D.; MANN, C. M.; MARKHAM, J. L. Interactions between components of the essential oil of *Melaleuca alternifolia*. **Journal of applied microbiology**, v. 91, n. 3, p. 492-497, 2001.

CUNHA, Jessyka A. da et al. Essential oils of *Cunila galioides* and *Origanum majorana* as anesthetics for *Rhamdia quelen*: efficacy and effects on ventilation and ionoregulation. **Neotropical Ichthyology**, v. 15, p. e160076, 2017.

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

DA SILVA, Eduardo et al. Assessment of induction and recovery times of anaesthesia in *Astyanax bimaculatus* using 2-phenoxyethanol and the essential oils of *Melaleuca alternifolia* and *Ocimum gratissimum*. **Aquaculture Research**, v. 51, n. 2, p. 577-583, 2020.

DA SILVA, Lusinalva Leonardo et al. Atividades terapêuticas do óleo essencial de melaleuca (*Melaleuca alternifolia*) Uma revisão de literatura. **Brazilian Journal of health review**, v. 2, n. 6, p. 6011-6021, 2019.

DOS SANTOS, João Pedro Costa et al. *Ocimum gratissimum* Lineu: Uma revisão de seus efeitos farmacológicos e usos medicinais *Ocimum gratissimum* Lineu: A review of its pharmacological effects and medicinal uses. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 4, n. 6, p. 28716-28732, 2021.

EMBRAPA PESCA E PISCICULTURA, 2020. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/cim-centro-de-inteligencia-e-mercado-em-aquicultura/comercio-exterior/peixes-ornamentais>> Acesso em: 09 de Set. 2023.

EVANGELISTA, Luan Victor. Análise da composição química do óleo essencial de *Ocimum gratissimum* L. 2020.

FARIA, P. M. C. et al. Aquicultura ornamental: um mercado promissor. **Panorama Aquicult**, v. 26, p. 24-37, 2016.

GAROZZO, Adriana et al. In vitro antiviral activity of *Melaleuca alternifolia* essential oil. **Letters in applied microbiology**, v. 49, n. 6, p. 806-808, 2009.

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

HONORATO, Cláucia Aparecida; NASCIMENTO, Camila Aparecida. Metabolismo respiratório e da glicose de *Carassius auratus* submetidos à concentrações de eugenol. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 17, p. 545-552, 2016.

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

INOUE, Luis Antonio Kioshi Aoki et al. Physiological stress responses in the warm-water fish matrinxã (*Brycon amazonicus*) subjected to a sudden cold shock. **Acta Amazonica**, v. 38, p. 603-609, 2008.

JAVAHERY, Susan; NEKOUBIN, Hamed; MORADLU, Abdolmajid Haji. Effect of anaesthesia with clove oil in fish. **Fish physiology and biochemistry**, v. 38, p. 1545-1552, 2012.

JESUS, E. R.; BARIN, C. S.; MACHADO, R. E. Óleo Essencial de *Melaleuca alternifolia*-Otimização do Método de Análise. **XV ENCONTRO DE QUÍMICA DA REGIÃO SUL. UEPG**, 2007.

KIM, Hyun-Jin et al. Evaluation of antioxidant activity of Australian tea tree (*Melaleuca alternifolia*) oil and its components. **Journal of Agricultural and Food chemistry**, v. 52, n. 10, p. 2849-2854, 2004.

KLIMA NATURALI. Peixe Guppy (*Poecilia reticulata*), 2011. Disponível em: <<http://www.klimanaturali.org/2011/05/guppy-poecilia-reticulata.html>> Acesso em: 07 de Out. 2022.

LEIRA, Matheus Hernandez et al. Qualidade da água e seu uso em pisciculturas. **Pubvet**, v. 11, n. 1, p. 11-17, 2017.

LIMA, A. F. et al. Qualidade da água: piscicultura familiar. 2013.

LUZ, Ronald Kennedy; PORTELLA, Maria Célia. Tolerance to the air exposition test of *Hoplias lacerdae* larvae and juvenile during its initial development. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 48, p. 567-573, 2005.

MARICCHIOLO, Giulia; GENOVESE, Lucrezia. 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, 2011.

MIRGHAED, Ali Taheri et al. Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) anesthesia with myrcene: efficacy and physiological responses in comparison with eugenol. **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 44, p. 919-926, 2018b.

MIRGHAED, Ali Taheri; GHELICHPOUR, Melika; HOSEINI, Seyyed Morteza. Myrcene and linalool as new anesthetic and sedative agents in common carp, *Cyprinus carpio*-Comparison with eugenol. **Aquaculture**, v. 464, p. 165-170, 2016.

MYLONAS, Constantinos C. et al. Comparative efficacy of clove oil and 2-phenoxyethanol as anesthetics in the aquaculture of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and gilthead sea bream (*Sparus aurata*) at different temperatures. **Aquaculture**, v. 246, n. 1-4, p. 467-481, 2005.

NEIFFER, Donald L.; STAMPER, M. Andrew. Fish sedation, anesthesia, analgesia, and euthanasia: considerations, methods, and types of drugs. **ILAR journal**, v. 50, n. 4, p. 343-360, 2009.

PARK, Hye-Mi et al. Larvicidal activity of Myrtaceae essential oils and their components against *Aedes aegypti*, acute toxicity on *Daphnia magna*, and aqueous residue. **Journal of medical entomology**, v. 48, n. 2, p. 405-410, 2011.

PEDRAZZANI, Ana Silvia; NETO, Antonio Ostrensky. The anaesthetic effect of camphor (*Cinnamomum camphora*), clove (*Scyzogium aromaticum*) and mint (*Mentha arvensis*) essential oils on clown anemonefish, *Ampiprion ocellaris* (Cuvier 1830). **Aquaculture research**, v. 47, n. 3, p. 769-776, 2016.

PRABHU, K. S. et al. *Ocimum gratissimum*: A review of its chemical, pharmacological and ethnomedicinal properties. **The open Complementary medicine journal**, v. 1, n. 1, 2009.

PURBOSARI, Ninik et al. Natural versus synthetic anesthetic for transport of live fish: A review. **Aquaculture and Fisheries**, v. 4, n. 4, p. 129-133, 2019.

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

RIBEIRO, Felipe de Azevedo Silva; LIMA, Marco Tulio; FERNANDES, C. J. B. K. Panorama do mercado de organismos aquáticos ornamentais. **Boletim Sociedade Brasileira de Limnologia**, v. 38, n. 2, p. 1-15, 2010.

ROOHI, Zahra; IMANPOOR, Mohammad Reza. 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**, v. 437, p. 327-332, 2015.

ROUBACH, RODRIGO; GOMES, L. de C. O uso de anestésicos durante o manejo de peixes. **Panorama da Aquicultura**, v. 11, n. 66, p. 37-40, 2001.

SAMPAIO, Flávia DF; FREIRE, Carolina 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.

SENA, Artur Cedraz et al. Essential oil from *Lippia alba* has anaesthetic activity and is effective in reducing handling and transport stress in tambacu (*Piaractus mesopotamicus* × *Colossoma macropomum*). **Aquaculture**, v. 465, p. 374-379, 2016.

SILVA-SOUZA, J. G. et al. Eugenol como anestésico para oscar, *Astronotus ocellatus*. **Archivos de zootecnia**, v. 64, n. 247, p. 205-210, 2015.

SOMMERVILLE, C. et al. World association for the advancement of veterinary parasitology (WAAVP) guideline for testing the efficacy of ectoparasiticides for fish. **Veterinary parasitology**, v. 219, p. 84-99, 2016.

SOUZA, Carine F. et al. In vivo bactericidal effect of *Melaleuca alternifolia* essential oil against *Aeromonas hydrophila*: Silver catfish (*Rhamdia quelen*) as an experimental model. **Microbial pathogenesis**, v. 98, p. 82-87, 2016.

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

SPANGHERO, Diogo Bessa Neves et al. Peppermint essential oil as an anesthetic for and toxicity to juvenile silver catfish. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 54, 2019.



TEIXEIRA, Rafael Rivas et al. Essential oil of *Aloysia triphylla* in Nile tilapia: anaesthesia, stress parameters and sensory evaluation of fillets. **Aquaculture Research**, v. 48, n. 7, p. 3383-3392, 2017.

TONI, Cândida et al. Fish anesthesia: effects of the essential oils of *Hesperozygis ringens* and *Lippia alba* on the biochemistry and physiology of silver catfish (*Rhamdia quelen*). **Fish physiology and biochemistry**, v. 40, p. 701-714, 2014.

UEHARA, S. A. et al. The effectiveness of tricaine, benzocaine, clove oil, and menthol as anesthetics for lambari-bocarra *Oligosarcus argenteus*. **Aquaculture**, v. 502, p. 326-331, 2019.

YOUSEFI, Morteza et al. Thymol as a new anesthetic in common carp (*Cyprinus carpio*): Efficacy and physiological effects in comparison with eugenol. **Aquaculture**, v. 495, p. 376-383, 2018a.

ZAHL, Inger Hilde; SAMUELSEN, Ole; KIESSLING, Anders. Anaesthesia of farmed fish: implications for welfare. **Fish physiology and biochemistry**, v. 38, p. 201-218, 2012.