



UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO – UFMA

CENTRO DE CIÊNCIAS DE CHAPADINHA – CCCh

CURSO DE ZOOTECNIA

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO



**TOXICIDADE AGUDA E EFEITO ANESTÉSICO DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Pectis
brevipedunculata* EM TAMBATINGA (*Colossoma macropomum* x *Piaractus
brachypomus*)**

Discente: Milena Sousa Veiga

Orientador (a): Prof.^a Dr.^a: Jane Mello Lopes

CHAPADINHA – MA

2024

MILENA SOUSA VEIGA

**TOXICIDADE AGUDA E EFEITO ANESTÉSICO DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Pectis
brevipedunculata* EM TAMBATINGA (*Colossoma macropomum* x *Piaractus
brachypomus*)**

Trabalho apresentado ao curso de Zootecnia, do Centro de Ciências de Chapadinha da Universidade Federal do Maranhão como requisito indispensável para obtenção do título de Bacharel em Zootecnia.

Orientador (a): Prof.^a Dr.^a: Jane Mello Lopes

CHAPADINHA – MA

2024

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

Veiga, Milena Sousa.

TOXICIDADE AGUDA E EFEITO ANESTÉSICO DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Pectis brevipedunculata* EM *TAMBATINGA Colossoma macropomum* x *Piaractus brachypomus* / Milena Sousa Veiga. 2024.

36 p.

Orientador(a): Jane Mello Lopes.

Monografia (Graduação) - Curso de Zootecnia, Universidade Federal do Maranhão, Chapadinha - MA, 2024.

1. Chá de Moça. 2. Óleo Essencial. 3. Sedação. 4. Sustentabilidade. 5. . I. Lopes, Jane Mello. II. Título.

MILENA SOUSA VEIGA

**TOXICIDADE AGUDA E EFEITO ANESTÉSICO DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Pectis
brevipedunculata* EM TAMBATINGA (*Colossoma macropomum* x *Piaractus
brachypomus*)**

Aprovado em / /

Profa. Dra. Jane Mello Lopes

Orientadora (UFMA)

Prof. Dr. Odair dos Santos Monteiro

Membro Interno (UFMA)

MSc. Romério Rodrigues dos Santos Silva

Membro Externo

AGRADECIMENTOS

Agradeço acima de tudo a Deus, por ter me concedido chegar até aqui. Tudo que foi feito em minha vida foram provas que se a gente acreditar e ter fé, determinação, todos os nossos objetivos podem ser alcançados. Só tenho gratidão!

A minha mãe Rosangela Paula Oliveira de Sousa, não tenho palavras para agradecer tudo que a senhora me ensinou durante toda a minha vida e que ainda vai ensinar, só posso dizer que amo muito a senhora e devo cada conquista a sua força e determinação, pois é digno de toda a minha admiração.

Agradeço as minhas irmãs Mariana Sousa Veiga e Patrícia Paulo de Souza, que incentivam e apoiam as minhas aventuras, que fazem com que minha vida seja divertida e emocionante, amo muito vocês.

Agradeço muitíssimo ao Gildean da Silva Andrade, namorado e companheiro de turma, que tornou tudo mais leve no decorrer da graduação, não tenho palavras para agradecer, sou muito feliz por ter você na minha vida, te amo muito.

A todos da minha família e amigos, que também contribuíram para que tudo isso fosse possível.

A minha orientadora Professora Dra. Jane Mello Lopes por seus ensinamentos, pelas conversas que fizeram com que eu tenha novos planos e continue buscando aperfeiçoar o que já sei e aprender ainda mais.

A todos que conheci na UFMA, principalmente aos da minha turma, em especial Sarah Sousa. Aos meus companheiros de almoço, pelas boas risadas e conversas aleatórias, vocês são de outro mundo (Gildean Andrade, Eduardo Firmino, Josenildes Botelho, Luíz Fernando Nascimento e Arlan Santana).

Ao grupo de pesquisa Pescado com seus integrantes: Gildean Andrade, Josenildes Botelho, Luíz Fernando Nascimento, Arlan Santana, Fernanda Santos, Mychelle Costa, Antônia Mara e Francisco Pereira.

Ao Laboratório de Nutrição e Alimentação de Organismos Aquáticos do Maranhão - LANUMA, principalmente ao Prof. Dr. Felipe Barbosa, por toda ajuda e ensinamentos adquiridos.

A todos os profissionais que trabalham na Universidade, professores, técnicos, seguranças e funcionários da limpeza.

Ao Rafael Marchão, pela ajuda com a parte estatística e aos professores Dra. Claudia Quitino e Dr. Odair Monteiro pela disponibilidade do óleo de *Pectis brevipedunculata*.

Agradeço muitíssimo à banca avaliadora, Prof. Dr. Odair dos Santos Monteiro e MSc. Romério Rodrigues dos Santos Silva pelo aceite do convite, por suas contribuições no trabalho.

Meu muito obrigada a todos, que ajudaram a realizar essa conquista.

Resumo

Os procedimentos adotados na aquicultura, como confinamento, amostragem e transporte, podem desencadear estresse agudo ou crônico nos peixes. Nesse contexto, estudos com óleos essenciais indicam benefícios para o bem-estar dos peixes, oferecendo uma opção sustentável e economicamente viável. O óleo essencial de *Pectis brevipedunculata* (OEPB), devido às suas propriedades biológicas, desperta interesse em diversas aplicações, embora seu potencial como anestésico em peixes ainda não tenha sido amplamente explorado. O objetivo deste estudo foi avaliar a toxicidade e a ação anestésica do OEPB em tambatingas (*Colossoma macropomum* x *Piaractus brachypomus*). Foram realizados dois experimentos distintos. No primeiro experimento, testaram-se diferentes concentrações do OEPB (25µL/L; 50µL/L; 75µL/L; 100µL/L; 125µL/L e 150µL/L) diluídas em etanol (1:10) utilizando cinco aquários de 1L de água com aeração constante. Para cada concentração, foram utilizados cinco animais (n=5) com peso e comprimento médios de 13,80±2,28 g e 9,99±0,65 cm, respectivamente. O tempo máximo de exposição ao óleo foi de 30 minutos, e cada animal foi utilizado apenas uma vez. No segundo experimento, avaliou-se a toxicidade do OEPB em tambatingas durante 6 horas de exposição avaliando diferentes concentrações (25 a 150 µL/L), com quatro repetições para cada concentração. Concluiu-se que as concentrações de 150 e 100µL/L do OEPB são as mais eficazes para a sedação e anestesia, respectivamente. No entanto, considerando a dose letal média (DL₅₀), concentrações superiores a 50µL/L não são recomendadas para exposições de até 6 horas, pois essas concentrações causaram 100% de mortalidade nas tambatingas.

Palavras-Chave: Chá de moça, Óleo essencial, Sedação, Sustentabilidade.

Abstrat

Aquaculture procedures, such as confinement, sampling and transportation, can trigger acute or chronic stress in fish. In this context, studies with essential oils indicate benefits for fish welfare, offering a sustainable and economically viable option. *Pectis brevipedunculata* essential oil (BPEO), due to its biological properties, has aroused interest in several applications, although its potential as an anesthetic in fish has not yet been widely explored. The objective of this study was to evaluate the toxicity and anesthetic action of OEPEB in Tambatingas (*Colossoma macropomum* x *Piaractus brachypomus*). Two different experiments were carried out. In the first experiment, different concentrations of OEPEB (25 μ L/L; 50 μ L/L; 75 μ L/L; 100 μ L/L; 125 μ L/L and 150 μ L/L) diluted in ethanol (1:10) were tested using five 1L aquariums with constant aeration. For each concentration, five animals (n=5) with average weight and length of 13.80 \pm 2.28 g and 9.99 \pm 0.65 cm, respectively, were used. The maximum exposure time to the oil was 30 minutes, and each animal was used only once. In the second experiment, the toxicity of OEPEB in tambatingas was evaluated for 6 hours of exposure evaluating different concentrations of OEPEB (25 to 150 μ L/L), with four repetitions for each concentration. It was concluded that concentrations of 150 and 100 μ L/L of *Pectis brevipedunculata* essential oil are the most effective for sedation and anesthesia, respectively. However, considering the median lethal dose (LD50), concentrations higher than 50 μ L/L are not recommended for exposures of up to 6 hours, since these concentrations caused 100% mortality in tambatingas.

Keywords: Girl's tea, Essential oil, Sedation, Sustainability.

Lista de figuras

- Figura 1:** Componentes majoritários (Geranial e Neral) de *P. brevipedunculata*.....16
- Figura 2:** *Pectis brevipedunculata*.....16
- Figura 3:** Tambatinga (*Colossoma macropomum* x *Piaractus brachypomus*).....17
- Figura 4:** Sistema experimental usado durante os testes com o OEPB sobre efeito sedativo e anestésico nas tambatingas.....19
- Figura 5:** Sistema experimental usado nos testes de toxicidade do OEPB em tambatingas.....21
- Figura 6:** Estrutura química do Citral.....23
- Figura 7:** Mortalidade de tambatingas (*Colossoma macropomum* x *Piaractus brachypomus*) após 6 horas de exposição ao óleo essencial de *Pectis brevipedunculata*.....28

Lista de tabelas

Tabela 1 – Características comportamentais dos peixes observadas de acordo com os diferentes estágios de anestesia.....20

Tabela 2 – Valores médios dos tempos de indução a sedação (E1), anestesia (E2), e recuperação (E3) de OEPB em Tambatingas.....24

Lista de siglas e abreviaturas

μL - Microlitro

L - Litro

mg - Miligrama

$^{\circ}\text{C}$ - Graus Celsius

ANOVA - Análise de variância

CCCh - Centro de Ciências de Chapadinha

E1 - Estágio 1

E2 - Estágio 2

E3 - Estágio 3

h - Hora

L - Litro

MA - Maranhão

M^3 - Metro cúbico

min - Minutos

O^2D - Oxigênio dissolvido

OE - Óleo essencial

OEPB - Óleo essencial de *Pectis brevipedunculata*

P. brevipedunculata - *Pectis brevipedunculata*

pH - Potencial Hidrogeniônico

s - Segundos

SNK - Student Newman Keuls

T - Temperatura

UFMA - Universidade Federal do Maranhão

L. alba - *Lippia alba*

CEUA - Comitê de Ética e Experimentação Animal

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	12
2. JUSTIFICATIVA	12
3. OBJETIVOS	13
3.1 Objetivo Geral	13
3.2 Objetivos Específicos.....	13
4. REVISÃO DE LITERATURA	14
4.1 Uso dos óleos essenciais como anestésico na piscicultura	14
4.2 <i>Pectis brevipedunculata</i> (Gardner) Sch. Bip.	15
4.3 Tambatinga (<i>Colossoma macropomum</i> x <i>Piaractus brachypomus</i>)	16
5. MATERIAL E MÉTODOS.....	17
5.1 Local e animais	17
5.2 Aquisição e extração do óleo	18
5.3 Protocolo experimental	18
5.4 Parâmetros físico-químicos da água.....	21
5.5 Análise estatística	21
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	23
7. CONCLUSÃO.....	31
REFERÊNCIAS.....	32

1. INTRODUÇÃO

O Brasil se destaca como um dos países com maior potencial para o crescimento da piscicultura em águas continentais em escala global, impulsionado pela vasta reserva de água doce do país. A Piscicultura atualmente tem enfrentado diversos desafios significativos, entre esses desafios estão o aumento dos custos de produção, a burocracia acentuada nos procedimentos de licenciamento ambiental e a demanda por tecnologias voltadas para a produção de espécies nativas (Santos, 2023).

Segundo levantamento da Associação Brasileira da Piscicultura (2024) no ano de 2023, o Brasil teve uma produção de 887.029 toneladas de peixes de cultivo, com crescimento de 3,1% sobre o resultado do ano anterior (860.355 toneladas) (Anuário Brasileiro da Piscicultura, 2024).

Com o aumento da produção, há um interesse crescente dos produtores em reduzir os prejuízos relacionados à mortalidade causada pelo estresse e por problemas de produção. Para garantir um retorno satisfatório e otimizar o empreendimento, é crucial considerar fatores que afetam o desempenho e a produção dos peixes (Urbinati e Carneiro, 2004). A utilização de anestésicos é uma ferramenta essencial no manejo, pois facilita a manipulação dos animais e redução do estresse, diminuindo, assim, as chances de mortalidade (Ross & Ross, 2008; Inoue *et al.*, 2005).

Pesquisas sobre o potencial dos óleos essenciais extraídos de plantas com efeitos anestésicos têm mostrado resultados promissores, indicando que esses óleos podem contribuir para o bem-estar dos animais em sistemas intensivos de manejo. Esses métodos alternativos são economicamente viáveis devido à sua natureza natural.

2. JUSTIFICATIVA

A piscicultura está em contínua expansão, o que está impulsionando a intensificação da produção. Nesse contexto, é fundamental desenvolver métodos de manejo que preservem tanto a integridade física dos peixes quanto a do meio ambiente.

Quanto a escolha do óleo essencial de *Pectis brevipedunculata* para este estudo, é fundamentada nas suas propriedades químicas distintas, destacando-se pela elevada concentração de citral (geranial + neral), conhecido por seu efeito anestésico. Estudos recentes apontaram que o chá dessa planta possui efeitos calmantes e espasmolíticos suaves (Lorenzi, 2021), atribuídos principalmente ao citral, que é o principal componente da *P. brevipedunculata*. Além disso, a falta de estudos aprofundados sobre essa planta a torna um campo promissor para futuras pesquisas.

A escolha da tambatinga se justifica pela sua importância econômica nas regiões Norte e Nordeste do Brasil, especialmente no Maranhão, onde é amplamente cultivada. Sua rápida taxa de crescimento, a capacidade de se adaptar a dietas com baixos níveis de proteína bruta (Ferreira, 2011) e a sua versatilidade nos sistemas de criação tornam a tambatinga uma espécie muito vantajosa para a piscicultura.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Avaliar a toxicidade aguda e o efeito anestésico do óleo essencial de *Pectis brevipedunculata* (OEPB) em Tambatingas (*Colossoma macropomum* x *Piaractus brachypomus*).

3.2 Objetivos Específicos

- Analisar o efeito sedativo, anestésico e o tempo de recuperação após a exposição ao OEPB;
- Avaliar a qualidade da água durante a exposição das tambatingas ao óleo essencial da *P. brevipedunculata*;
- Determinar a toxicidade e a sobrevivência dos animais após 6 horas de exposição a diferentes concentrações do óleo essencial de *Pectis brevipedunculata*.

4. REVISÃO DE LITERATURA

4.1 Uso dos óleos essenciais como anestésico na piscicultura

O óleo essencial (OE) é uma mistura complexa de substâncias voláteis lipofílicas (metabólitos secundários), geralmente odoríferas e líquidas. Podem ser chamados de óleos voláteis, óleos etéreos ou essências devidas a algumas de suas características físico-químicas, como volatilidade, solubilidade em solventes orgânicos (como o éter) e aroma intenso, muitas vezes agradável (Franco, 2013).

Os óleos essenciais são substâncias extraídas das plantas, principalmente das flores, folhas, rizomas e frutos. Seus constituintes principais são monos e sesquiterpenos e de fenilpropanoides, metabólitos que são responsáveis por suas características organolépticas (Bizzo; Hovell; Rezende, 2009).

Estas substâncias apresentam ótimo potencial medicinal, sendo usados para desenvolver novas drogas alternativas, pois possui amplo espectro de efeitos farmacológicos como antibacterianos, antivirais, antifúngicos, inseticidas (Scherer *et al.*, 2009; Milezzi *et al.*, 2013) efeitos sedativos e anestésicos (Cunha *et al.*, 2010; Becker *et al.*, 2012).

Os anestésicos para peixes são classificados nas categorias de produtos sintéticos ou naturais (extraído da planta). Entre os anestésicos sintéticos mais usados estão: 2-fenoxietanol, tricaína metanossulfonato (MS- 222), benzocaína, metomidato, etomidato, sulfato de quinaldina, propofol e cloridrato de cetamina. Os anestésicos sintéticos foram descritos sendo de alto custo, estressores ou que estimulam efeitos colaterais indesejáveis, como comportamento agitado, hiperatividade, hipersecreção de muco, danos na córnea e irritação da pele e brânquias (Mirghaed; Ghelichpour; Hoseini, 2016; Cunha *et al.*, 2017; Teixeira *et al.*, 2017).

Nas atividades de manejo na piscicultura, como pesagens, contagens, transporte e transferência entre tanques, os animais são manuseados frequentemente, passando por uma mudança brusca de ambiente, nesses momentos, o equilíbrio entre o peixe e o ambiente é interrompido, de maneira que o metabolismo do animal se altera no sentido de produzir energia extra para

realizar fugas, lutas ou se adequar fisiologicamente as novas condições. Essas reações do metabolismo são chamadas de estresse, que de acordo com a duração e a intensidade compromete o desempenho do animal. Uma solução para a prevenção do estresse pelo manejo é o uso dos anestésicos. Em estudos com anestésicos naturais, tem se destacado os óleos de cidreira (*Lippia alba*), alecrim pimenta (*Lippia sidoides*), alfavaca cravo (*Ocimum gratissimum*), jambú (*Spilanthes acmella*), cidrão (*Aloysia tryphila*) e melaleuca (*Melaleuca alternifolia*) (Inoue, 2021).

4.2 *Pectis brevipedunculata* (Gardner) Sch. Bip.

A *Pectis brevipedunculata* (Figura 2) pertence à família Asteraceae, é uma planta (gramínea) aromática, conhecida popularmente como “chá de moça” (Martins; Matos; Mathias, 2023). O gênero inclui espécies, que normalmente se desenvolvem em ambientes xéricos, na maioria das vezes em solos calcários, arenosos ou sobre as pedras. Estes locais apresentam bastante incidência luminosa, (caatinga, cerrado, cerrado aberto e campos) e muita umidade (brejo, várzea) (Jardim Botânico, 1986-1987). O óleo essencial de *P. brevipedunculata* possui alto grau de rendimento nos processos de extração, apresentando 1,8% de rendimento (Oliveira *et al.*, 2023).

Quanto a caracterização dos compostos químicos da *P. brevipedunculata*, Oliveira *et al.*, (2023) identificou trinta e quatro constituintes, representando aproximadamente 99,6% do total do óleo. Entre eles estão geranial (33,9%) e neral (26,7%) (Figura 1), seguidos de α -pineno (16,2%) e limoneno (8,1%), compreendendo um valor médio de 84,9% da composição do óleo. O óleo evidenciou principalmente uma elevada porcentagem de monoterpenos oxigenados (70%) e hidrocarbonetos monoterpênicos (25,9%).

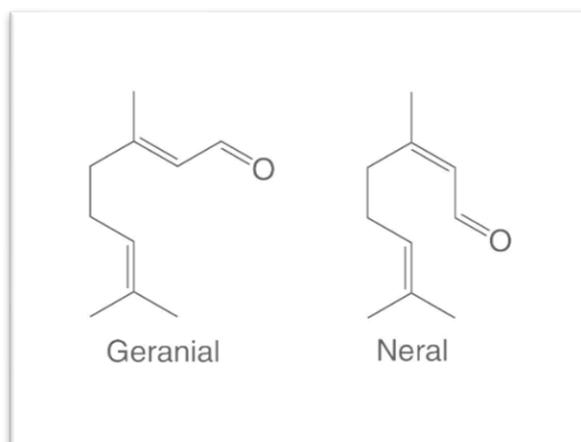


Figura 1: Componentes majoritários (Geranial e Neral) de *P. brevipedunculata*

Outros estudos mostraram recentemente que a *P. brevipedunculata* possui características com potencial anti-inflamatório, antimicrobiano, antifúngico, antiprotozoário e anti-ectoparasitos (Beraldo-borrazzo *et al.*, 2019; Camara *et al.*, 2023). Cabe ressaltar que até o momento não existe na literatura nenhum estudo avaliando o efeito sedativo/anestésico deste óleo essencial.



Figura 2: *Pectis brevipedunculata*
 Fonte: iNaturalist

4.3 Tambatinga (*Colossoma macropomum* x *Piaractus brachipomus*)

A tambatinga é um peixe híbrido (Figura 3) que surgiu a partir do cruzamento da fêmea do tambaqui (*Colossoma macropomum*) com o macho da

pirapitinga (*Piaractus brachypomum*), ambas espécies nativas da bacia amazônica (Ferreira, 2011).

No Brasil, seu cultivo se destaca pela importância econômica nas regiões norte e nordeste (Costa *et al.*, 2022). No ano de 2022, foi estimada a produção de 45.192.994 kg para o tambaqui e tambatinga (IBGE, 2022). A tambatinga apresenta características zootécnicas como rápido crescimento, bom rendimento de carcaça e fácil adaptação aos sistemas de criação intensivo (Sousa *et al.*, 2021).

No ambiente natural seu hábito alimentar é onívoro, principalmente frugívoro-herbívoro, possuindo um caráter oportunista, chega a atingir até 80 cm de comprimento e peso corporal de aproximadamente 15kg (Cruz *et al.*, 2006).



Figura 3: Tambatinga (*Colossoma macropomum* x *Piaractus brachypomus*)

5. MATERIAL E MÉTODOS

5.1 Local e animais

O experimento foi desenvolvido no setor de Piscicultura do Centro de Ciências de Chapadinha (CCCh), na Universidade Federal do Maranhão (UFMA) (03° 44 '17"S e 43° 20' 29"W e altitude de 107 m).

Os animais foram obtidos de uma piscicultura no município de Brejo/MA. Quando chegaram no laboratório de piscicultura foram mantidos por 15 dias num

tanque de concreto (6m³), localizado na parte exterior do prédio, até o início do experimento. Durante o período de aclimatação os animais receberam ração comercial (36% PB) duas vezes ao dia (07:30h e 17:00h) até a saciedade aparente. Vinte e quatro horas antes dos experimentos e durante a exposição ao óleo, as tambatingas não foram alimentadas. O protocolo experimental deste estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética e Bem-Estar Animal da UFMA sob o número de registro 23115.028167/2019-61.

5.2 Aquisição e extração do óleo

A *Pectis brevipedunculata* foi coletada no jardim botânico do Campus da Universidade Federal do Maranhão (UFMA), localizado em São Luís, MA (2°33'20.5" S / 44°18'32.7" W).

As folhas foram secas por cinco dias à temperatura ambiente, moídas e, em seguida, submetidas à hidrodestilação (3 h) usando um aparelho do tipo Clevenger (Figueiredo *et al.*, 2019). O óleo essencial foi analisado em um cromatógrafo gasoso acoplado a um espectrômetro de massa (GCMS) sistema QP2010 Ultra (Shimadzu Corporation, Tóquio, Japão), equipado com o software GCMS-Solution contendo as bibliotecas NIST 11, FFNSC 2 e Adams, conforme descrito em detalhes por Fernandes *et al.*, (2021).

Posteriormente ao processo de extração, o óleo foi armazenado em recipiente de vidro âmbar e mantido em armazenamento até sua utilização.

5.3 Protocolo experimental

Em um primeiro experimento foram testadas diferentes concentrações do OEPB (25µL/L; 50µL/L; 75µL/L; 100µL/L; 125 µL/L e 150 µL/L) que foram diluídos em etanol na proporção de 1:10. No tratamento controle foi utilizado 1.350 µL de etanol, sem a presença do óleo.

Foram utilizados cinco aquários plásticos contendo 1L de água mantidos com aeração constante. Para cada concentração (tratamento) foram utilizados 5 animais (n=5) totalizando 35 animais com peso e comprimento médios de 13,80±2,28 g e 9,99±0,65 cm, respectivamente. Vinte e quatro horas antes da exposição ao OEPB os animais foram mantidos em caixas de polietileno (150 L),

para não causar estresse aos animais ou qualquer interferência para a realização dos experimentos. Cada animal foi coletado de maneira aleatória e em seguida submetidos ao banho anestésico. O tempo máximo para exposição ao óleo foi de 30 minutos e cada animal foi utilizado apenas uma vez.

Para observar o tempo de recuperação após a exposição ao óleo, os animais foram transferidos para aquários com água pura (1L) e igualmente aerados. O animal foi considerado recuperado do efeito anestésico quando apresentou natação normal e respondeu aos estímulos externos (Bastão de vidro). O tempo máximo de observação neste estágio (recuperação) foi de 30 minutos. Para verificação do tempo de indução para cada estágio foi utilizado cronômetro digital (Figura 4).



Figura 4: Sistema experimental usado durante os testes com o OEPB sobre efeito sedativo e anestésico nas tambatingas.

Após a recuperação dos animais, foi realizada a biometria (peso e tamanho) e em seguida eles foram separados em grupos conforme a concentração de OEPB testada. Os animais foram mantidos por 24h em caixas de polietileno com capacidade para 150L, para observação do comportamento e possível mortalidade. Os animais ficaram em jejum 24 horas antes e durante todo o experimento.

Os estágios de indução e recuperação à anestesia foram avaliados conforme estudo de Small (2003), de acordo com a tabela 1:

Tabela 1 – Características comportamentais dos peixes 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)

Um segundo experimento foi realizado para testar a toxicidade do OEPB em até 6 horas de exposição (Figura 5). Foram utilizados 36 tambatingas ($19,17 \pm 1,57$ g), que foram distribuídas individualmente em aquário com capacidade de 1 L de água e com aeração constante. Os peixes foram mantidos em jejum por 24 horas antes do início do experimento e permaneceram sem ração durante todo o teste (6 h).

Foram testadas concentrações crescentes de OEPB (25; 30; 40; 45; 50; 75; 100 e $150 \mu\text{L}$), além do grupo controle ($1.350 \mu\text{L}$). Cada tratamento foi composto por quatro repetições ($n = 4$), e o delineamento experimental foi inteiramente casualizado.

O período de exposição ao OEPB foi de 6 horas, após o qual a mortalidade foi registrada (Figura 4). Para observar a mortalidade a cada hora era verificado se os peixes apresentavam algum movimento, foram considerados mortos quando não apresentavam movimentos operculares ou caudais, ou não respondiam a estímulos externos (utilizando um bastão de vidro). Durante o experimento os animais ficaram em seus respectivos aquários ao qual ao final das 6 horas foram retirados todos, os que haviam atingido a mortalidade e os que sobreviveram no período de exposição por 6 horas.



Figura 5: Sistema experimental usado nos testes de toxicidade do OEPB em tambatingas

5.4 Parâmetros físico-químicos da água

A qualidade da água foi analisada em ambos os experimentos, no início (tempo zero) e ao final do período de exposição ao OEPB. Para avaliar a temperatura e o oxigênio dissolvido, foi utilizado um oxímetro microprocessado AT-160 (Alfakit) O pH da água foi medido com um pHmetro digital (Alfakit) e a dureza total da água foi avaliada com um kit colorimétrico comercial (Alcon).

Para o experimento de anestesia, os valores médios da qualidade da água durante o experimento de sedação, anestesia e recuperação frente à exposição ao OEPB, foram de $6,4 \pm 0,73$ mg/L para o O_2D ; pH $6,5 \pm 0,42$; T da água dos aquários em $26,6 \pm 1,1$ °C e a dureza total de 50ppm. Estes parâmetros físico-químicos da água se mantiveram adequados para a tambatinga e para outras espécies de água doce de ambientes tropicais, conforme Leira *et al.*, (2017).

Durante o experimento de 6 horas de exposição, os parâmetros de qualidade da água permaneceram dentro dos limites recomendados para a espécie, conforme Bomfim *et al.* (2021). Os valores médios observados foram: oxigênio dissolvido $6,1 \pm 0,24$ mg/L, o pH foi de $6,3 \pm 0,15$, a Temperatura média da água dos aquários $25,4 \pm 0,13$ °C e Dureza total 50ppm.

5.5 Análise estatística

A avaliação da atividade anestésica entre as diferentes concentrações do OEPB foi realizada por meio da Análise de Variância (ANOVA), em seguida foi aplicado o teste de comparações múltiplas de Student-Newman-Keuls (SNK).

Diferenças entre médias foram consideradas ao nível de significância de 5%. Os dados da toxicidade do OEPB foram transformados em porcentagens.

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não foi observada mortalidade nas concentrações testadas durante o experimento ou após 24 h de exposição. O etanol, na maior concentração testada (1.350µL/L) para diluir o óleo, não induziu efeito sedativo nem anestésico nos peixes quando aplicado.

O estudo de Oliveira *et al.* (2023), com partes aéreas da planta no Campus da Universidade Federal do Maranhão (UFMA), São Luís - MA, identificou trinta e quatro constituintes químicos no óleo essencial de *P. brevipedunculata*, representando aproximadamente 99,6% do total do óleo. Entre eles, destacam-se o geranial (33,9%), neral (26,7%), α -pineno (16,2%) e limoneno (8,1%). O óleo apresentou uma elevada porcentagem de monoterpenos oxigenados (70%) e hidrocarbonetos monoterpênicos (25,9%).

Acredita-se que o geranial e o neral, encontrados majoritariamente no OEPB, provavelmente induziram o efeito sedativo e anestésico nas tambatingas, pois, de acordo com o estudo de Do Vale *et al.* (2002), o óleo essencial de *Lippia alba*, rico em citral (geranial + neral) também apresentou efeito sedativo em camundongos (Figura 6). Outro constituinte importante do OEPB foi o limoneno que, segundo a literatura, pode induzir efeito sedativo e relaxante por meio da sua atividade direta no sistema nervoso central (Do Vale *et al.*, 2002; Park *et al.*, 2011).

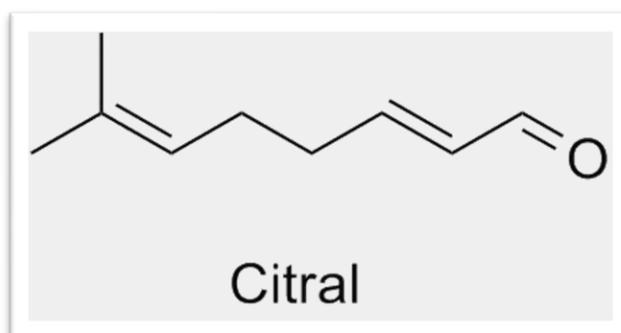


Figura 6: Estrutura química do Citral

Fonte: uniuqim

A sedação é um primeiro estágio de anestesia, no qual a percepção sensorial é reduzida, mas não há perda de equilíbrio. Em animais anestesiados, ocorre uma perda comum da percepção sensorial e do equilíbrio (Ross e Ross,

2008). O estágio de sedação é recomendado para transporte porque reduz o metabolismo do peixe, a excreção da amônia metabólica e os danos físicos causados pelo contato entre o peixe e a embalagem de transporte (Cunha *et al.*, 2010).

No estágio de sedação (E1) observou-se que o aumento das concentrações de OEPB reduziu o tempo de resposta em relação ao grupo controle. Nas concentrações de 100 e 125 μ L/L, o tempo de indução ao estágio de sedação foi em torno de 2 minutos, e em 150 μ L/L foi inferior a 2 minutos.

O menor tempo para induzir o estágio de anestesia (E2) foi observado nas concentrações de 100, 125 e 150 μ L/L, que diferiram estatisticamente das demais concentrações (controle; 25 μ L/L; 50 μ L/L, 75 μ L/L), apresentando tempos de respostas abaixo de 4 minutos (Tabela 2).

Tabela 2 – Valores médios dos tempos (s) de indução a sedação (E1), anestesia (E2), e recuperação (E3) do óleo essencial de *P. brevipedunculata* em Tambatingas.

Concentrações (μ L/L)	Médias de Tempo (s)		
	E1	E2	E3
25	837,00 ^A	1187,60 ^A	1586,60 ^A
50	272,80 ^B	791,00 ^B	920,00 ^B
75	239,80 ^B	427,80 ^C	166,40 ^C
100	125,80 ^C	281,20 ^D	518,00 ^{BC}
125	120,20 ^C	206,80 ^D	368,00 ^C
150	93,20 ^C	163,00 ^D	432,00 ^C
CV (%)	19,71	13,67	42,00

Letras diferentes nas colunas diferem significativamente ($p < 0,05$) entre si (Análise de variância ANOVA seguida do teste SNK).

CV (%) = Coeficiente de Variação em porcentagem.

Os tempos observados para a indução da anestesia (E2) em tambatingas, abaixo de 4 minutos, indicam que o OEPB pode ser considerado um bom anestésico para outras espécies, pois, segundo Spanghero *et al.*, (2019), o tempo ideal para que o animal entre em estágio de anestesia é de até 3 minutos.

Em estudo com óleos essenciais de laranja (*Citrus x aurantium*) e limão (*Citrus x latifolia*), Lopes *et al.* (2018) identificaram o limoneno como o principal constituinte em ambos os óleos (93,98% e 49,73%, respectivamente). Os autores também demonstraram o efeito anestésico dos óleos de laranja e limão em Jundiá (*Rhamdia quelen*) nas concentrações acima de 400 μ L/L para *C. aurantium* e 300 μ L/L para *C. latifolia*.

Considerando a quantidade de limoneno observada nos óleos de laranja (93,98%), limão (49,73%) e *P. brevipedunculata* (8,1%), em relação as concentrações utilizadas nos estudos com jundiá e tambatinga, observa-se que o OEPB, com menor quantidade de limoneno, induziu um efeito anestésico nas tambatingas com doses muito menores (a partir de 100 μ L/L) comparado ao tempo de anestesia dos óleos de laranja e limão no jundiá.

Os constituintes geranial (33,9%) e neral (26,7%) observados no OEPB, quando comparados ao estudo de Batista *et al.* (2018) com OE de *Lippia alba* (principais constituintes geranial e neral) nas concentrações de 50; 100 e 300 mg/L em tambaqui (*Colossoma macropomum*), indicam que essas concentrações foram recomendadas como as mais adequadas para anestésiar essa espécie. No entanto, os autores mostraram que, na concentração de 100 mg/L o tempo de anestesia dos animais foi em torno de 10 minutos.

Em contrapartida, o OEPB com 100 μ L/L anestésiou as tambatingas em menos de 4 minutos, demonstrando que o OEPB foi mais eficaz na indução anestésica do que o OE de *L. alba* (OELA) quando comparados nas mesmas concentrações. Essa diferença pode estar relacionada à porcentagem de compostos entre os dois óleos, já que o OELA apresenta menor concentração de geranial (25,4%) e neral (16,6%).

Nossos resultados se assemelham aos encontrados por Souza (2017) em seu estudo com óleo essencial *Cymbopogon flexuosus* que tem como principais componentes o α -citral (geranial 48.90%) e o β -citral (neral 37.47%) em alevinos de tambatinga. Nesse estudo, foram utilizadas concentrações de 25; 50; 100; 150 e 300 μ L/L. Todas as concentrações sedaram e anestésiam os peixes, mas as doses eficientes para a anestesia foram observadas apenas nas maiores concentrações, induzindo a anestesia em menos de 10 minutos. Assim a

concentração de 100µL/L foi indicada para indução a anestesia, conforme os resultados encontrados em nossa pesquisa.

Chowdhury *et al.* (2010) indentificaram trinta e quatro constituintes no óleo essencial de capim limão (*Cymbopogon flexuosus*), sendo considerados majoritários o α - citral (33,1%), β - citral (30,0%) e limoneno (2,0%), que juntos representam 65,1% da composição do óleo. Semelhante ao óleo essencial de capim limão, o OEPB também possui como constituintes majoritários o geranial (33,9%), o neral (26,7%) e o limoneno como quarto maior constituinte (8,1%), totalizando 68,7% da composição química do óleo de *Pectis brevipedunculata*.

O tempo de recuperação do peixe pós anestesia é influenciado pelo tempo de exposição ao fármaco e pela temperatura da água (Ostrensky *et al.*, 2000; Gomes *et al.*, 2001). Em nosso estudo, o tempo máximo de exposição foi o mesmo para todas as concentrações testadas (30 minutos), e a temperatura média foi de 26°C.

Na concentração de 50µL/L, o tempo de recuperação observado foi em torno de 15 minutos. Para as concentrações de 100, 125 e 150µL/L, os tempos de recuperação foram de 8, 6 e 7 minutos, respectivamente, apresentando diferenças estatísticas em relação ao grupo etanol. O menor tempo de recuperação observado nas tambatingas foi na concentração de 75µL/L, com um tempo de 2 minutos e 7 segundos (tabela 2).

A maioria dos peixes submetidos à anestesia, apresenta o tempo ideal de recuperação de até 5 minutos (Roubach e Gomes, 2001). De acordo com Neiffer e Stamper (2009), um tempo de recuperação superior a 10 minutos pode indicar uma dose excessiva ou um comprometimento fisiológico do animal.

Embora as concentrações acima de 100µL/L de EOPB tenham sido eficazes como agente sedativo, do ponto de vista econômico, a utilização da dose correta do anestésico é fundamental para evitar desperdícios e prevenir alterações metabólicas nos animais. Óleos essenciais tendem a ter um custo elevado, e o uso de altas concentrações pode causar efeitos adversos, incluindo a morte dos peixes devido ao excesso de exposição ao produto (Roubach e Gomes, 2001).

Algumas plantas podem produzir óleos essenciais com alto potencial tóxico, o que destaca a necessidade de avaliar sua ação tóxica em organismos não-alvo (Ferraz *et al.*, 2022). Neste sentido, um segundo experimento foi realizado para testar a toxicidade do óleo essencial de *Pectis brevipedunculata* em até 6 horas de exposição, utilizando as concentrações de 25; 30; 40; 45; 50; 75; 100 e 150 μ L/L.

No início, quando os animais foram colocados nos aquários com as diferentes concentrações do OEPB, apresentaram um pouco de agitação, debatendo-se contra as paredes do aquário, com comportamento semelhante ao observado no primeiro experimento que testou o OEPB como anestésico. A principal diferença, além do tempo de exposição, foi o comportamento dos animais ao longo das horas.

No tratamento controle, não ocorreu mortalidade durante ou após às 6 horas de exposição. Os animais apresentaram natação normal, ventilação adequada, e responderam aos estímulos externos. De forma semelhante ao grupo controle, nas concentrações de 25 μ L/L, 30 μ L/L, 40 μ L/L e 45 μ L/L não houve mortalidade (Figura 7). No entanto, os animais expostos a essas concentrações mostraram comportamentos de nado lento e diminuição da ventilação ao longo das horas.

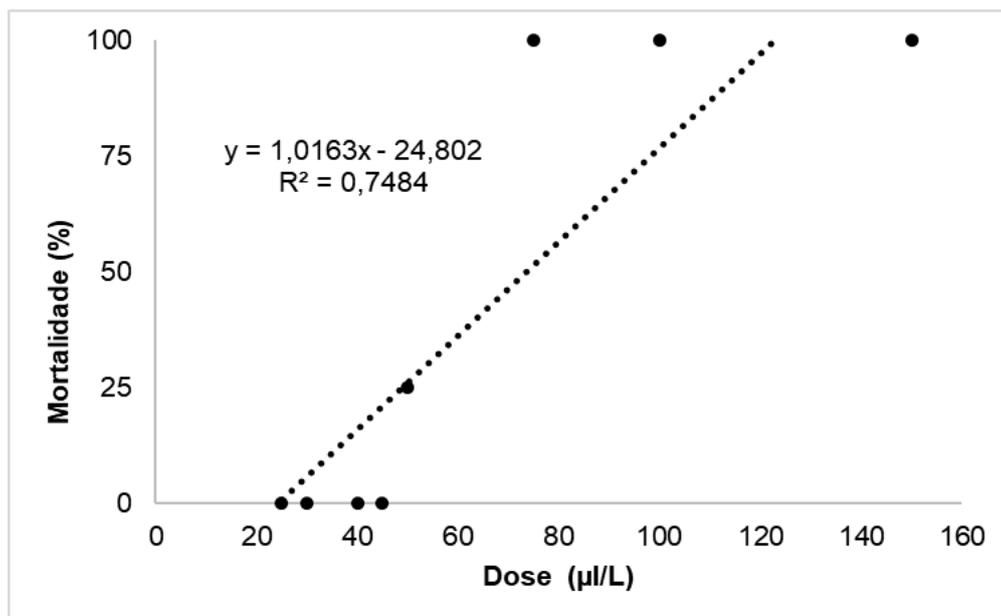


Figura 7: Mortalidade de tambatingas (*Colossoma macropomum* x *Piaractus brachypomus*) após 6 horas de exposição ao óleo da essencial da *Pectis brevipedunculata*.

Foi observado que após 1 hora de exposição ao OEPB, os animais nas menores concentrações (25; 30; 40; 45; 50µL/L) retornaram a sua natação normal e reagiram aos estímulos externos (testados com um bastão de vidro). Esse comportamento não foi observado nos animais expostos as concentrações 75; 100 e 150µL/L, onde após 1 hora de exposição, nenhum animal apresentou movimentos, mesmo quando estimulados.

Este comportamento de ausência de reação nas concentrações acima de 75µL/L do OEPB corrobora o que foi relatado por Souza (2019), que descreveu que durante a exposição a alguns anestésicos, os animais frequentemente demonstram uma série de sinais, como perda de movimento, perda de reflexos, dificuldade em manter-se na posição vertical na coluna d'água e, posteriormente, anestesia profunda, sem resposta a estímulos visuais ou mecânicos externos.

Em relação a mortalidade das tambatingas expostas às diferentes concentrações do OEPB, observou-se que conforme as concentrações aumentavam, a mortalidade ocorria em menor tempo de exposição. Após 2 hora de exposição, 100% dos animais morreram nas concentrações de 100 e 150µL/L. Após 4 horas de exposição, a concentração de 75µL/L também resultou em 100% de mortalidade, na concentração de 50µL/L resultou em 25% de

mortalidade, enquanto nas concentrações mais baixas nenhum animal morreu durante as 6 horas de exposição ao OEPB.

Nossos resultados sugerem que essa mortalidade pode estar relacionada ao componente majoritário da *P. brevipedunculata*, o citral, de acordo com Silva *et al.* (2022), o citral é um composto altamente volátil, solúvel em álcoois e óleos, e pouco solúvel em água. Ao interagir com resíduos amino de proteínas, pode causar efeitos indesejáveis e toxicidade, sendo essa toxicidade superior à de alguns medicamentos anticancerígeno (Bayala *et al.*, 2018). Niculau *et al.* (2013) relatam que o citral causou uma mortalidade de 64% em lagartas (*Spodoptera frugiperda*) quando administrado na dose de 3 µg/mg de inseto em 24 horas, o que corresponde a 0,003µL. Esses resultados confirmaram que a alta toxicidade do OEPB está fortemente relacionada à ação sinérgica entre neral e geranial.

No estudo de Silva *et al.* (2023), que avaliou o efeito anestésico e a toxicidade aguda do óleo essencial de *Citrus sinensis* em betta (*Betta splendens*), foram testadas concentrações de 20, 30, 40, 50 e 60µL/L durante 48 h. Os autores observaram uma mortalidade de 67% na concentração de 50µL/L e 100% na maior concentração testada, 60µL/L. O óleo essencial de *Citrus sinensis* continha limoneno (93,20%), mirceno (1,60%), α-pineno (0,40%), sabineno (0,25%) e outros constituintes não identificados.

No estudo de Martins *et al.* (2017) que avaliou a composição química e a toxicidade de óleos essenciais comerciais de laranja doce (*Citrus sinensis*), laranja amarga (*Citrus aurantium*), limão siciliano (*Citrus limon*) e do monoterpeno D-limoneno sobre o inseto *Dysmicoccus brevipes* em 24, 48 e 72 horas. O óleo de limão siciliano e laranja doce apresentaram maior percentual de mortalidade (respectivamente 98,68% e 94,11%), sendo o D-limoneno o constituinte majoritário de ambos os óleos.

Spanghero *et al.* (2019) estudando a toxicidade do óleo essencial de hortelã pimenta (*Mentha piperita*) em juvenis de jundiá (*Rhamdia quelen*) por até 4 horas, nas concentrações de 20, 50, 80, 110 e 140 mg/ L, observaram que não houve mortalidade no grupo controle e na menor concentração testada (20 mg/ L). No entanto, com o aumento das concentrações, as taxas de mortalidade aumentaram proporcionalmente, indicando que a mortalidade estava

diretamente relacionada ao aumento das concentrações, com o óleo sendo considerado tóxico em concentrações superiores a 50 mg/L. Os componentes encontrados no óleo de *Mentha piperita* foram mentol (27,5%), mentofurano (22,5%), pulegona (12,8%), acetato de mentila (12,5 %), mentona (11%), limoneno (3,5%) e 1,8-cineol (2,1%).

A toxicidade destes óleos essenciais pode estar relacionada não apenas aos constituintes químicos individuais e a interação entre eles, mas também ao tempo de exposição (Almeida, 2015; Affonso *et al.*, 2012). Todos os óleos mencionados, incluindo o OEPB, contém limoneno em maior ou menor concentração, o que sugere que este componente pode ter um papel significativo na toxicidade observada. Neste sentido, Junior e Pastore (2007) discutem a biotransformação do limoneno e relatam que a sua aplicação em larga escala não é viável devido à alta volatilidade do substrato e a sua toxicidade para microrganismos em geral.

Os óleos essenciais de *Pectis brevipedunculata* e *Dizygostemon riparius* foram testados recentemente no controle da antracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*) em manga durante 10 dias. Os autores relataram que ambos os óleos foram eficazes no controle do fungo na concentração de 4 µl/mL apresentando uma diminuição na severidade da doença a partir do sexto dia após a aplicação (Corrêa *et al.*, 2023).

Os óleos essenciais, por suas características, apresentam atividade antibacteriana, o que pode estar relacionado a apenas um dos seus principais constituintes químicos. No entanto, há relatos que indicam que essa atividade não depende exclusivamente desses componentes individuais, mas também das interações entre eles (Almeida, 2015). A complexidade da composição química e a sinergia entre os diferentes constituintes são fatores importantes que influenciam a eficácia antibacteriana dos óleos essenciais.

7. CONCLUSÃO

Conclui-se que as concentrações de 150 e 100 μ L/L do óleo essencial de *Pectis brevipedunculata* são as mais eficazes para a sedação e anestesia, respectivamente. No entanto, considerando a dose letal média (DL₅₀), concentrações superiores a 50 μ L/L não são recomendadas para exposições de até 6 horas, pois essas dosagens causaram 100% de mortalidade nas tambatingas. Portanto, é essencial relacionar concentração/tempo adequado para evitar a toxicidade e garantir a segurança dos peixes.

REFERÊNCIAS

- AFFONSO, R. S.; RENNÓ, M. N.; SLANA, G. B.; & FRANCA, T. C. Aspectos Químicos e Biológicos do Óleo Essencial de Cravo da Índia **Revista Virtual de Química**, v. 4, n. 2, p. 146-161, 2012.
- ALMEIDA, R.R. Mecanismos de ação dos monoterpenos aromáticos: timol e carvacrol. 2015. Coordenadoria do Curso de Química. Universidade de São João Del-Rei. Trabalho de Conclusão de Curso. 2015.
- ANUÁRIO BRASILEIRO DA PISCICULTURA. **PEIXE BR 2024**. Brasil produz 887.029t de peixes de cultivo. Disponível em: <<https://www.peixebr.com.br/anuario-2024/>> Acesso em: 20 mar. 2024.
- ARQUIVOS DO JARDIM BOTÂNICO DO RIO DE JANEIRO. [Rio de Janeiro, JR, Brasil. 1986-1987. Disponível em: < > Acesso em: 14 Abr. 2024.
- BATISTA, E. S.; BRANDÃO, F. R.; MAJOLA, C.; INOUE, L. A. K. A.; 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.
- BAYALA, B., BASSOLE, I.H.N., MAQDASY, S., BARON, S., SIMPORE, J., LOBACCARO, J.A., 2018. *Cymbopogon citratus* and *Cymbopogon giganteus* essential oils have cytotoxic effects on tumor cell cultures. Identification of citral as a new putative anti-proliferative molecule. *Biochimie* 153, 162–170.
- BECKER, A. G.; PARODI, T. V.; HELDWEIN, C. G.; ZEPPENFELD, HEINZMANN, B. M.; BALDISSEROTTO, B. Transportation of silver catfish, *Rhamdia quelen*, in water with eugenol and the essential oil of *Lippia alba*. **Fish Physiol Biochem** v. 38, p. 789-796, 2012.
- BERALDO-BORRAZZO, J.; SANTOS, A. O. DOS; FILHO, B. A. DE A.; QUINTANS- JÚNIOR, L. J.; NAKAMURA, C. V. Atividade anti-protozoário in vitro do p -Cimeno sobre *Leishmania amazonensis*. **Luminária**, v. 21, n. 02, p. 6–16, 2019.
- BIZZO, H. R., HOVELL, A. M. C., & REZENDE, C. M. Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. **Química nova**, v. 32, p. 588-594, 2009.
- BOMFIM, M. A. D.; MARCHÃO, R. S.; RIBEIRO, F. B.; SIQUEIRA, J. C. D.; COSTA, D. D. C. D.; & LIMA, M. S. D. Digestible threonine requirement in diets for tambatinga (♀ *Colossoma macropomum* x♂ *Piaractus brachypomus*) fingerlings. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 45, p. e023520, 2021.
- CAMARA, M. B. P.; LIMA, A.S.; JUMBO, L. O. V.; TAVARES, C. P.; MENDONÇA, C. J. S., MONTEIRO, O. S.; ARAÚJO, S. H. C.; OLIVEIRA, E. E., NETO, J. S. L.; MAIA, J. G. S.; COSTA-JUNIOR, L. M. e ROCHA, C. Q. Seasonal and Circadian Evaluation of the *Pectis brevipedunculata* Essential Oil and Its Acaricidal Activity against *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae). **J. Braz. Chem. Soc.**, Vol. 00, No. 00, 1-10, 2023.
- CHOWDHURY, S. R.; TANDON, P. K.; CHOWDHURY, A. R. Chemical composition of the essential oil of *Cymbopogon flexuosus* (Steud) Wats. growing

in Kumaon Region. **Journal of Essential Oil Bearing Plants**, v. 13, n. 5, p. 588-593, 2010.

CORRÊA, L. A. D.; RODRIGUES, A. A. C.; DIAS, L. R. C.; SILVA, E. K. C.; MONTEIRO, O. S.; OLIVEIRA, L. J. M. G. Antifungal potential of essential oils from *Pectis brevipedunculata* and *Dizygotemon riparius* in anthracnose control in mango. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 45, p. e-889, 2023.

COSTA, T.S.; SILVA, R.C.; PRETTO, A.; MONTEIRO, O.S.; SIQUEIRA, J.C.; BALDISSEROTTO, B.; LOPES, J.M. 2022. Effect of *Lippia grata* essential oil as a feed additive on the performance of tambatinga juveniles. **Acta Amazonica** 52: xx <http://dx.doi.org/10.1590/1809-4392202102442>.

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. Disponível em: <<https://central.to.gov.br/download/114979>>. Acesso em: 29 mar. 2024.

CUNHA, J. A. D.; SCHEEREN, C. Á.; SALBEGO, J.; GRESSLER, L. T.; MADALOZ, L. M.; BANDEIRA-JUNIOR, G.; ... & BALDISSEROTTO, B. 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.

CUNHA, M. A. F. M. C.; BARROS, L. O.; GARCIA, A. P. L.; VEECK, B. M.; HEINZMANN, V. L.; LORO, T.; EMANUELLI & B. BALDISSEROTTO. Essential oil of *Lippia alba*: A new anesthetic for silver catfish, *Rhamdia quelen*. **Aquaculture**,306:403-406, 2010.

SOUZA, A. D. S. L.; PERET, A. C.; HAMOY, M.; DE SOUZA, R. A. L.; TORRES, M. F.; & BARBAS, L. A. L. Propofol and essential oil of *Nepeta cataria* induce anaesthesia and marked myorelaxation in tambaqui *Colossoma macropomum*: implications on cardiorespiratory responses. **Aquaculture**, v. 500, p. 160-169, 2019.

DO VALE, T. G.; FURTADO, E. C.; SANTOS JR, J. G.; & VIANA, G. S. B. Central effects of citral, myrcene and limonene, constituents of essential oil chemotypes from *Lippia alba* (Mill.) NE Brown. **Phytomedicine**, v. 9, n. 8, p. 709-714, 2002.

FERRAZ, C. A.; PASTORINHO, M. R.; OLIVEIRA, A. P.; SOUSA, A. C. A. Ecotoxicity of plant extracts and essential oils: A review. *Environmental Pollution*. v. 292. p. 2. Jan. 2022.

FERREIRA, A. V.; **Ontogenia inicial do Híbrido Tambatinga (*Colossoma macropomum*, Fêmea X *Piaractus brachypomus*, Macho)**. 2011. (Programa de Pós Graduação em Ciência Animal), Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Rio de Janeiro, Tese de Doutorado, 2011.

FERNANDES, Y.M.L.; MATOS, J.V.S.; LIMA, C.A.; TARDINI, A.M.; VIERA, F.A.P.; MAIA, J.G.S.; MONTEIRO, O.S.; LONGATO, G.B.; ROCHA, C.Q. 2021. Essential oils obtained from aerial *Eugenia punicifolia* parts: Chemical composition and antiproliferative potential evidenced through cell cycle arrest. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 32: 1381-1390

FRANCO, G. F. **Bioprospecção das Partes Aéreas e Óleo Essencial de *Liquidambar styraciflua* L., Altingiaceae**. 2013. (Mestrado em Ciências Farmacêuticas - Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Paraná, Dissertação, 2013.

GOMES, L. C., CHIPPARI-GOMES, A. R., LOPES, N. P., ROUBACH, R., & ARAUJO-LIMA, C. A. 2001. Efficacy of benzocaine as an anesthetic in juvenile tambaqui *Colossoma macropomum*. **Journal of the World Aquaculture Society**, Baton Rouge, v. 32, n. 4, p. 426-431.

IBGE, **Produção da Pecuária Municipal 2022**; Rio de Janeiro: IBGE, 2023. Disponível em: <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/pesquisa/18/16459>. Acesso em 29 mar. 2024.

INOUE, L. A. K. A.; Artigo - O uso de óleos essenciais como anestésicos em piscicultura, 2021. **EMBRAPA 50 ANOS**.

INOUE, L.A.K.A.; AFONSO, L.O.B.; IWAMA, G.K.; MORAES, G., 2005. Efeito do óleo de cravo na resposta de estresse do matrinxã (*Brycon cephalus*) submetido ao transporte. **Acta Amazonica**, v.35, p.289-295.

JÚNIOR, M. R. M.; PASTORE, G. M. Biotransformação de limoneno: uma revisão das principais rotas metabólicas. **Quim. Nova**, v. 30, n. 2, 382-387, 2007.

LEIRA, M. H.; CUNHA, L. T.; BRAZ, M. S.; MELO, C. C. V.; BOTELHO, H. A.; REGNIM, L. S. Qualidade da água e seu uso em pisciculturas. **Pubvet--*--***, v. 11, n. 1, p. 11-17, 2017.

LOPES, J. M.; SOUZA, C. F.; SCHINDLER, B. PINHEIRO, C. G.; SALBEGO, J.; SIQUEIRA, J. C.; HEINZMANN & BALDISSEROTTO, B. Essential oils from *Citrus x aurantium* and *Citrus x latifolia* (Rutaceae) have anesthetic activity and are effective in reducing ion loss in silver catfish (*Rhamdia quelen*). **Neotropical Ichthyology**, v. 16, n. 2, p. e170152, 2018.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. de A.; CAVALLEIRO, A. S.; BROCHINI, V. F. G.; SOUZA, V.C. Plantas medicinais no Brasil: ativas e exóticas. 3. ed. **Nova Odessa**, Jardim Botânico Plantarum, 2021.

MARTINS, G. A.; MATOS, C. R. R.; MATHIAS, L. Estudo Fitoquímico dos Constituintes Fixos de *Pectis brevipedunculata*. In: Anais do XV Congresso Fluminense de Iniciação Científica e Tecnológica / VIII Congresso Fluminense de Pós-Graduação, Campos dos Goytacazes, 2023. Campinas: Galoá, 2023.

MARTINS, G. S. O.; ZAGO, H. B.; COSTA, A. V.; JUNIOR, L. M. A.; CARVALHO, J. R. Caracterização química e toxicidade de óleos essenciais cítricos sobre *Dysmicoccus brevipes* (Hemiptera: Pseudococcidae). **Revista Caatinga**, v. 30, n. 3, p. 811-817, 2017.

MILLEZI A.F.; BAPTISTA N.N.; CAIXETA D.S.; ROSSONI D.F.; CARDOSO M.G.; PICCOLI R.H. Caracterização e atividade antibacteriana de óleos essenciais de plantas condimentares e medicinais contra *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Campinas, v.15, n.3, p.373-379, 2013.

MIRGHAED, A. T.; GHELICHPOUR, M.; HOSEINI, S. M. Myrcene and linalool as new anesthetic and sedative agents in common carp, *Cyprinus carpio*-Comparison with eugenol. **Aquaculture**, v. 464, p. 165-170, 2016.

NEIFFER DL, STAMPER MA. 2009. Fish sedation, anesthesia, analgesia and euthanasia: consideration, methods and types of drugs. *ILAR J.*; 50(4):343-60.

NICULAU, E. D. S., ALVES, P. B., NOGUEIRA, P. C. D. L., MORAES, V. R. D. S., MATOS, A. P., BERNARDO, A. R., ... & RIBEIRO, L. D. P. Atividade inseticida de óleos essenciais de *Pelargonium graveolens* L'Herit e *Lippia alba* (Mill) NE Brown sobre *Spodoptera frugiperda* (JE Smith). **Química Nova**, v. 36, p. 1391-1394, 2013.

OLIVEIRA, M. J. M. G.; SOBRINHO, V. R. S.; MAGALHÃES, O. O.; AZEVÊDO, V. L. S.; CERQUINHO, L. B.; SILVA, K. F. C.; LIMA, A. S.; CAMÂRA, M. B. P.; ROCHA, C. Q.; MIRANDA, R. C. M.; ALIANÇA, A. S. S.; SOUSA, C. S. Bioprospecção do Óleo Essencial de *Pectis brevipedunculata* Sch. Bip.: Caracterização Química, Toxicidade e Atividade Leishmanicida: Chemical Characterization, Toxicity and Leishmanicidal activity. **Revista Interfaces: Saúde, Humanas e Tecnologia**, v. 11, n. 3, p. 2810-2819, 2023.

OSTRENSKY, A.; BORGHETTI, J. R.; PEDINI, M. Situação atual da aquicultura brasileira e mundial. In: VALENTI, C. V. et al. (Eds.). **Aquicultura no Brasil: bases para um desenvolvimento sustentável**. Brasília, DF: CNPq. p. 354-381. 2000.

PARK, H.M.; KIM JUNHEON, K. J.; CHANG KYUSIK, C. K.; KIM BYUNGSEOK, K. B.; YANG YUJUNG, Y. Y.; KIM GILHAH, K. G.; ... & PARK ILKWON, P. I. 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.

ROSS, L.G.; ROSS, B, 2008. Anaesthetic and sedative techniques for aquatic animals. 3rd ed. **Oxford**: Blackwell Science. 236p

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

SANTOS, E. Exportações da piscicultura brasileira batem recorde. **Empraba Pesca e Aquicultura**. 2023. Disponível em: < <https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/79759668/exportacoes-da-piscicultura-brasileira-batem-recorde>> Acesso em: 14 abr. 2024.

SCHERER, R.; WAGNER, R.; DUARTE, M.C.T.; GODOY, H.T. Composição e atividades antioxidante e antimicrobiana dos óleos essenciais de cravo-da-índia, citronela e palmarosa. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Botucatu, v.11, n.4, p.442-449, 2009.

SILVA, G. D. S., DE JESUS MARQUES, J. N., LINHARES, E. P. M., BONORA, C. M., COSTA, É. T., & SARAIVA, M. F. Review of anticancer activity of monoterpenoids: Geraniol, nerol, geranial and neral. **Chemico-biological interactions**, v. 362, p. 109994, 2022.

SILVA, R. C.; SILVA, L. R.; FRANÇA, I. F.; LOPES, J. M.; PANTOJA, B. T. S.; PEREIRA, M. M.; RAMOS, L. R. V. Anesthetic effect and acute toxicity of *Citrus sinensis* essential oil in betta. **Boletim do Instituto da Pesca**. v. 49 (2023).

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

SOUSA, M. C.; BOMFIM, M. A. D.; RIBEIRO, F. B.; SIQUEIRA, J. C.; MARCHÃO, R. S.; SOUSA, T. J. R.; TAKISHITA, S. S. Lysine requirements of tambatinga (♀ *Colossoma macropomum* × ♂ *Piaractus brachypomus*) fingerlings using different diet formulation techniques. **Aquaculture Nutrition**, 27(6), 1825-1836. 2021.

SOUZA, J. F. V.; Atividade anestésica do óleo essencial de *Cymbopogon flexuosus* em alevinos de tambatinga. Universidade Federal do Maranhão, Chapadinha, Monografia, 2017.

SPANGHERO, D. B. N.; SPANGHERO, E. C. A. M.; PEDRON, J. S.; CHAGAS, E. C.; CHAVES, F. C. M; FILHO, E. Z. *Peppermint* essential oil as an anesthetic for and toxicity to juvenile silver catfish. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**. Brasília. v.54, 2019.

TEIXEIRA, R. R.; SOUSA, R. C.; SENA, A. C.; BALDISSEROTTO, B.; HEINZMANN, B. M.; COUTO, R. D., & COPATTI, C. E. 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.

URBINATI, E. C.; CARNEIRO, P. C. F.; 2004. Práticas de manejo e estresse dos peixes em piscicultura intensiva. Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropicais intensivas, p. 171-194.



CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada: "**EXTRATOS E ÓLEOS ESSENCIAIS DE PLANTAS COMO ANESTÉSICOS E NA ALIMENTAÇÃO DE TAMBAQUI E TAMBATINGA**", **Processo nº 23115.028167/2019-61**, sob a responsabilidade do **Profa. Dra. Jane Mello Lopes**, que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi considerado **APROVADO** pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA - UFMA) da Universidade Federal do Maranhão, na reunião realizada em 20/09/2019.

We certify that the proposal: "**EXTRACTS AND ESSENTIAL OILS OF PLANTS AS ANESTHETICS AND IN THE FOOD OF TAMBAQUI AND TAMBATINGA**", **Process n. 23115.028167/2019-61**, under the responsibility of **Prof. Dr. Jane Mello Lopes**, which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, sub phylum Vertebrata (except humans beings) for scientific research purposes (or teaching) - is in accordance with Law No. 11,794, of October 8, 2008, Decree No. 6.899, of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **APPROVED** by the Ethics Committee on Animals Use of the Federal University of Maranhão (CEUA - UFMA), in meeting of 09/20/2019.

Finalidade da Proposta: Pesquisa

Área: Produção Animal

Vigência da Proposta: 20/11/2019 a 20/11/2021.

Origem*:

DNOCS - Piauí (PI) -
CNPJ 00.043.71/0004-96

Amostra

Espécie:

Peixes

(*Colossoma macropomum*)

(*Colossoma macropomum x Piaractus brachypomus*)

Sexo: Machos
Fêmeas

Idade: Alevinos/
Juvenis

Peso: 1 a 50g

544

Linhagem/Raça: **Tambaqui/Tambatinga**

Local do experimento: Laboratório de Piscicultura do Centro de Ciências Agrárias e Ambientais - CCAA/UFMA

*Não aplicável a Biotério

São Luís, 18 de novembro de 2019.

Prof. Dr. Rafael Cardoso Carvalho

Presidente da Comissão de Ética no uso de Animais - CEUA/UFMA