

**Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e
Evolução
Universidade Federal da Bahia**

**Transporte de tambaqui *Colossoma macropomum*
(Cuvier 1816) em diferentes densidades de carga com uso
do óleo essencial de *Aloysia citrodora* Paláu**

Orlando Pinto de Almeida Castro Neto

Salvador

2024

Orlando Pinto de Almeida Castro Neto

**Transporte de tambaqui *Colossoma macropomum* (Cuvier 1816) em
diferentes densidades de carga com uso do óleo essencial de *Aloysia
citrodora* Paláu**

Dissertação apresentada ao Instituto de Biologia da Universidade Federal da Bahia para obtenção do Título de Mestre em Biodiversidade e Evolução pelo Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Evolução.

Orientador: Carlos Eduardo Copatti

Salvador

2024

Dados internacionais de catalogação-na-publicação
(SIBI/UFBA/Biblioteca Universitária Reitor Macedo Costa)

Castro Neto, Orlando Pinto de Almeida.

Transporte de tambaqui *Colossoma macropomum* (Cuvier 1816) em diferentes densidades de carga com uso do óleo essencial de *Aloysia citrodora* Paláu / Orlando Pinto de Almeida Castro Neto. - 2024.
50 f.: il.

Orientador: Prof. Dr. Carlos Eduardo Copatti.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal da Bahia, Instituto de Biologia, Salvador, 2024.

1. Peixes - Fisiologia. 2. Anestésicos. 3. Tambaqui (Peixe). 4. Essências e óleos essenciais - Uso terapêutico. I. Copatti, Carlos Eduardo. II. Universidade Federal da Bahia. Instituto de Biologia. III. Título.

CDD - 597

CDU - 597

Comissão julgadora

Transporte de tambaqui *Colossoma macropomum* (Cuvier 1816) em diferentes densidades de carga com uso do óleo essencial de *Aloysia citrodora* Paláu

Orlando Pinto de Almeida Castro Neto

Orientador: Carlos Eduardo Copatti

Dissertação de Mestrado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Evolução da Universidade Federal da Bahia como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre na área de Biodiversidade e Evolução.

Aprovada por:

Em: 27 de setembro de 2024

Documento assinado digitalmente
 **BERNARDO BALDISSEROTTO**
Data: 18/10/2024 07:59:10-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Bernardo Baldisserotto

Documento assinado digitalmente
 **MAURO ALVES DA CUNHA**
Data: 18/10/2024 12:16:50-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Mauro Alves da Cunha

Documento assinado digitalmente
 **CARLOS EDUARDO COPATTI**
Data: 16/10/2024 20:50:04-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Carlos Eduardo Copatti

Orientador

Agradecimentos

Em homenagem à minha avó Helenita Jacques, cuja presença e ensinamentos continuarão a iluminar meu caminho, mesmo na ausência.

À minha mãe, Vera Castro, por ser um exemplo constante de dedicação e por todo o suporte e apoio incondicional ao longo dessa jornada.

Ao meu pai, Orlando Júnior, por acreditar em mim, apoiar minhas escolhas e sempre me encorajar a perseguir meus objetivos com determinação.

Ao meu irmão, Ricardo Castro, pela disponibilidade e pela ajuda prestativa em momentos decisivos.

À minha noiva, Thayanne Sales, pelo apoio incansável, compreensão e, acima de tudo, por ser uma amiga fiel desde o início da graduação, sempre ao meu lado.

À Universidade Federal da Bahia, pela oportunidade de realizar este trabalho, e à FAPESB, pelo financiamento que possibilitou a concretização desta pesquisa.

Ao meu orientador, Carlos Eduardo Copatti, pela confiança depositada e pelo comprometimento em viabilizar a conclusão deste projeto, mesmo diante dos desafios.

Aos meus colegas do Laboratório de Estudo e Fisiologia de Fauna Aquática, pelas valiosas contribuições e resiliência durante os experimentos.

A todos os amigos que conquistei ao longo dessa trajetória e a todos que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho, o meu sincero agradecimento.

Índice

Introdução geral.....	1
1. Capítulo 1. Transporte de tambaqui <i>Colossoma macropomum</i> (Cuvier 1816) em diferentes densidades de carga com uso do óleo essencial de <i>Aloysia citrodora</i> Paláu	8
1.1 Resumo	9
1.2 Abstract	10
1.3 Introdução	11
1.4 Material e métodos	12
1.5 Resultados	17
1.6 Discussão	23
1.7 Conclusão	28
1.8 Referências	29
Referências Bibliográficas	39

Introdução Geral

Tambaqui

O tambaqui [*Colossoma macropomum* (Cuvier 1816)] pertence à família Serrasalminidae, ordem Characiformes, e é nativo das bacias Amazônica e Orinoco. No Brasil, o tambaqui é cultivado em todo o território, sendo uma das espécies de peixe mais exportadas para o mercado mundial (EMBRAPA, 2024). Ele possui uma expectativa de vida de até 17 anos e atinge maturidade sexual em torno de 3 a 4 anos de idade (Santos et al., 2006; Val & Oliveira, 2021).

É uma espécie que apresenta modificações na estrutura corporal e no padrão de coloração ao longo de seu desenvolvimento (Val & Oliveira, 2021). Apresenta um formato ovoide na fase juvenil, romboide na fase pré-adulta e alongado na fase adulta (Goulding & Carvalho, 1982). Quando juvenil, apresenta coloração prateada e uma mancha preta em formato circular, enquanto o adulto apresenta coloração escura de acordo com o ambiente onde vive (Santos et al., 2006). Na fase adulta pode chegar a pesar 30 kg e atingir até 1 m de comprimento (Val & Oliveira, 2021).

A alimentação dos tambaquis é preferencialmente onívora, incluindo zooplâncton, sementes e frutas, facilitando sua criação em cativeiro por se adaptarem facilmente à alimentação comercial, além de terem boa absorção de nutrientes e performance reprodutora (Valladão et al., 2018; Felix e Silva et al., 2020). Na natureza, a sua reprodução ocorre de maneira sazonal, durante os períodos de enchente, de forma que os tambaquis migram até os rios para desovarem nas raízes presentes nas margens (Araújo-Lima & Goulding, 1998).

A espécie apresenta uma alta resistência à hipóxia, principalmente devido a capacidade de promover a expansão do lábio inferior pelo acúmulo de fluído linfático na região, promovendo o surgimento de um edema que pode variar de tamanho de acordo com o grau de exposição a hipóxia (Braum & Junk, 1982; Val & Oliveira, 2021). A expansão labial auxilia na captura da camada de água na superfície que está em contato direto com o ar, estando assim mais oxigenada (Neves et al., 2020).

Uso de anestésicos em peixes

O principal foco para o uso de anestésicos em peixes é minimizar a mortalidade e o impacto negativo do estresse gerado pelo processo de captura, transporte e manuseio (Torgersen, 2020). Secundariamente, anestésicos também são utilizados para eutanásia e

realização de procedimentos cirúrgicos, apesar de terem prognóstico reservado em peixes (Wildgoose, 2000).

De maneira geral, os anestésicos a serem considerados para o uso em peixes devem ter as seguintes propriedades: promover um rápido efeito de anestesia (1-3 min); ter rápida recuperação (< 5 ou 10 min); não ser tóxico para peixes e humanos; ser de fácil manuseio; ter margem de segurança adequada; não promover efeitos persistentes no comportamento e fisiologia dos peixes; promover uma redução do consumo de oxigênio; ser rapidamente excretado; não deixar resíduos em tecidos e ser economicamente viável em sua utilização (Marking & Meyer, 1985; Oliveira et al., 2022; Simões-Bueno et al., 2024).

Os anestésicos podem ser classificados como sintéticos ou naturais (originados a partir de plantas), sendo que os naturais têm se apresentado como uma alternativa segura e econômica em relação aos sintéticos (Balamurugan et al., 2016; Taheri Mirghaed et al., 2018). Estudos realizados com anestésicos sintéticos apontam efeitos colaterais como hiperatividade, alterações do sistema cardiovascular e endócrino, alteração nos níveis de glicose, lactato e secreção excessiva de muco, dano a córnea e irritação na pele e brânquias (Carter et al., 2011; Purbosari et al., 2019; Aydin & Barbas, 2020; Ouyang et al., 2020). Portanto, deve-se evitar o seu uso em produtos para peixes destinados ao consumo humano, impedindo que resíduos dessas substâncias cheguem ao consumidor (Aydin & Barbas, 2020).

Principais anestésicos utilizados em peixes

Em peixes, comumente são utilizados eugenol ou anestésicos sintéticos. O eugenol é o principal constituinte do óleo essencial (OE) de cravo (*Syzygium aromaticum*), oriundo da destilação de folhas, caule e flores. Seu uso como anestésico em peixes tem sido o mais estudado dentre os diferentes compostos presentes em OE (Hoseini et al., 2018). Trata-se de um líquido de coloração escura altamente lipofílico, sendo rapidamente absorvido pelos tecidos uma vez que está em circulação no sangue, (Priborsky & Velisek, 2018). Em países como Austrália, Chile, Finlândia, Nova Zelândia e ilhas Faroe, um derivado do eugenol, o iso-eugenol, é comercializado como o princípio ativo do AQUI-S para uso em peixes destinados ao consumo, não sendo necessário um tempo de carência até o abate (Hoskonen & Pirhonen, 2004).

Em peixes, o eugenol é rapidamente absorvido pelas brânquias e disperso pelo corpo através da corrente sanguínea, devido a seu caráter lipofílico, promovendo uma ação sistêmica no organismo (Javahery et al., 2012). A concentração ideal de eugenol para

sedação e anestesia varia de acordo com a espécie estudada. Em estudo realizado com peixes-palhaço (*Amphiprion sebae*) foi identificado que a concentração de 17,5 mg L⁻¹ é ideal para anestesia, sendo analisados o comportamento do animal e a mortalidade pós experimental (Balamurugan et al., 2016). De maneira similar, verificou-se que concentrações de eugenol de 30-40 mg L⁻¹ não causaram mortalidade e são recomendadas para anestesia de juvenis de molinésias (*Mollinesia sp.*) (Santos et al., 2016), enquanto em panga (*Pangasius hypophthalmus*) com peso entre 2-20 g, as concentrações de 53,8 e 81,5 mg L⁻¹ são adequadas para anestesia e concentrações de 20-40 mg L⁻¹ são adequadas para sedação, respectivamente (Hoiseni et al., 2015). A concentração necessária para atingir a anestesia varia de acordo com diversos fatores, dentre eles, o fluxo de anestésico através das brânquias, que está relacionado à ventilação branquial, perfusão e área efetiva de trocas gasosas, além de sofrer influência da temperatura por consequente aumento da taxa opercular (Javahery et al., 2012).

Dentre os anestésicos sintéticos, a triclaína metanosulfato (MS-222) é um dos mais utilizados mundialmente em peixes (Aydin & Barbas, 2020; Luz & Favero, 2024). Nos Estados Unidos, o MS-222 é o único sintético permitido pela Food and Drug Administration (FDA) para o uso em peixes destinados ao consumo humano, sendo necessário um período de carência de 21 dias após exposição (FDA, 2024). Sua principal vantagem é a solubilidade em água, além da rápida indução e recuperação, sendo utilizado para reduzir o estresse durante o transporte de peixes (Priborsky & Velisek, 2018). Apesar das vantagens relatadas, os efeitos adversos ao uso de MS-222 são bem-documentados e incluem: alterações comportamentais e danos em tecidos e órgãos como córnea e brânquias (Aydin & Barbas, 2020).

A benzocaína é uma solução padrão insolúvel em água, comercializada também na forma de pó ou cristal para o preparo de solução anestésica, sendo normalmente utilizada em peixes na concentração de 50-100 mg L⁻¹ (Brown, 2011). O uso de benzocaína em acará-bandeira (*Pterophyllum scalare* [Schultze, 1823]) se mostrou não tóxico para os animais até a concentração de 160 mg L⁻¹, promovendo anestesia induzida em 3 min e um tempo de recuperação de 5 min sem causar mortalidade ou apresentar sinais patológicos (Romaneli et al., 2018). Entretanto, em experimento realizado com barbo (*Puntius filamentosus*), foi verificado um aumento da mortalidade e do cortisol plasmático dos peixes sob efeito de benzocaína em relação ao uso de MS-222, embora ambos os anestésicos tenham sido considerados eficazes como anestésicos (Pramod et al., 2010b).

O propofol é uma substância com propriedades anestésicas caracterizado pelo rápido tempo de recuperação e por ser biodegradável, não acumulando nos tecidos dos animais (GholipourKanani & Ahadizadeh, 2013). Em dourado (*Carassius auratus*), a concentração de 7 mg L⁻¹ de propofol é considerada segura e eficaz, com tempo de recuperação semelhante ao de anestesia com eugenol (GholipourKanani & Ahadizadeh 2013). O uso de propofol foi avaliado para anestesia de carpas (*Cyprinus carpio*) através da observação comportamental, frequência cardíaca e respiratória, concluindo que a concentração de 5 mg L⁻¹ é satisfatória para anestesia para procedimentos de rápida duração (Oda et al., 2014).

O fenoxietanol é uma substância oleosa e incolor utilizada tanto em procedimentos de aquicultura, quanto para o transporte de peixes (Priborsky & Velisek, 2018). É considerado um anestésico de baixo custo, fácil preparo e rápida ação (Priborsky & Velisek, 2018). Apesar disso, é necessária uma alta concentração do produto para que a anestesia seja eficaz, podendo ocasionar síndromes neurofisiológicas nos peixes e ser irritante para os olhos e pele dos aplicadores (Brown, 2011).

Óleos essenciais

Óleos essenciais (OE) são compostos voláteis caracterizados pelo forte aroma, sendo resultado do metabolismo secundário de plantas aromáticas e podem ser sintetizados a partir de qualquer órgão vegetal, sendo posteriormente armazenados (Bakkali et al., 2008). Dentre os principais usos dos OE, podemos citar seu potencial antibacteriano, anti-inflamatório, imunomodulador, anti-tumoral e antiangiogênico, além de funcionarem como antialérgicos, antimutagênicos, antivirais e repelente de certos insetos (Saad et al., 2013). Seu uso tem seus primeiros registros datados do século IX, quando povos do oriente médio os levaram para a Europa, entretanto, sua fundamentação e métodos de extração só se tornaram bem documentados por volta do século XVI (Hanif et al., 2019).

A maior parte de um OE corresponde a sua fração volátil, enquanto uma pequena parte (1-10%) corresponde a um resíduo não-volátil, composto por ácidos graxos, hidrocarbonetos, esteróis, ceras, flavonoides e carotenoides (Hanif et al., 2019). O constituinte majoritário dos OE são os terpenos, podendo se apresentar principalmente na forma de monoterpenos (90% dos casos) ou de sesquiterpeno (Bakkali et al., 2008). A partir das ligações químicas feitas com os terpenos constituintes do OE, eles podem assumir diferentes funções orgânicas como: hidrocarbonetos; álcoois; aldeídos; ácidos; ésteres; cetonas e lactonas (Bakkali et al., 2008; Hanif et al., 2019).

A composição dos OE varia de acordo com fatores físico-químicos do cultivo das plantas, sendo seus compostos classificados de acordo com sua porcentagem presente na mistura em primário, secundário e demais constituintes, seu efeito pode ser resultado de componentes isolados ou de um conjunto atuando de maneira interativa (Cunha et al., 2017; Hoseini et al., 2019). Além da variação natural da composição dos OE, após serem extraídos de plantas, eles passam a estar vulneráveis à oxidação, transformação química ou polimerização (Turek & Stintzing, 2013). Devido a essa natureza variável, os OE podem ser prejudiciais caso sejam aplicados em quantidades incorretas, apresentem um tempo de exposição longo ou o animal tenha intolerância a algum componente particular do OE em questão (Cunha et al., 2017). Para evitar a degradação de tais OE, os principais fatores a serem levados em consideração quando se trata da estabilidade dos mesmos são: luz; temperatura; oxigenação; contaminantes metálicos; porcentagem de água; estrutura e composição química e sua forma de armazenamento (Turek & Stintzing, 2013).

Devido à grande variedade de compostos químicos presentes em um OE, um mesmo composto pode ser encontrado em diferentes espécies de plantas, como é o caso do mirceno e do linalol, terpenos que podem ser encontrados por exemplo nos OEs de *Thymus* sp. ou lavanda (*Lavandula* sp.) (Taheri Mirghaed et al., 2016). Outro tipo de variação na composição de um OE é quando a planta apresenta diferentes quimiotipos a depender de diferentes fatores bióticos e abióticos de seu desenvolvimento. Por exemplo, em *Lippia alba*, os OEs com os quimiotipos linalol e citrato podem ocorrer em diferentes cultivares, e são os mais comumente utilizados para anestesia de peixes com tal OE (Souza et al., 2018).

O uso de OE como anestésicos surge como uma alternativa para o uso de substâncias sintéticas, buscando amenizar o impacto negativo e os efeitos colaterais através do uso de compostos naturais derivados de plantas (Taheri Mirghaed et al., 2018). Além de eficazes, os OE têm como vantagens seu baixo custo, fácil acesso, baixa toxicidade e sua capacidade de ser biodegradável (Taheri Mirghaed et al., 2018). Dentre as espécies de plantas cujos OE extraídos são mais estudados, pode-se destacar: *Syzygium aromaticum*; *L. alba*; *Aloysia citrodora* (sinonímia *Aloysia triphylla*) e *Ocimum basilicum*, enquanto os componentes mais estudados são: eugenol, mentol, linalol e 1,8-cineol (Aydin & Barbas, 2020).

Sedação e transporte

Existem dois principais grupos de fatores de estresse no comércio de peixes, o primeiro deles são os inatos do processo de captura, transporte e comercialização do animal

até o aquário do criador, enquanto o segundo grupo se refere aos problemas com o ambiente e alimentação no aquário final de criação, onde o peixe irá passar a maior parte de sua vida (Torgersen, 2020). Como consequência, cada etapa no processo de produção irá adicionar um fator de estresse para estes animais, principalmente nas etapas de transporte e manuseio (Stevens et al., 2017).

O transporte de peixes advindos de cativeiro é comumente realizado através de sacos plásticos, com ou sem adição de oxigênio puro (Mazandarani et al., 2017). Neste sentido, o uso de anestésicos pode contribuir para a melhoria do bem-estar destes peixes durante atividades rotineiras de pisciculturas, como manejo e transporte (Cooke et al., 2004). Durante o transporte, deve ser utilizada uma concentração de OE suficiente para promover sedação, sem comprometer a capacidade de equilíbrio e nado dos peixes (Santos et al., 2020). Tal sedação pode contribuir para redução do metabolismo dos animais, minimizando o consumo de oxigênio, produção de resíduos nitrogenados como nitrito e amônia e evitando lesões por colisão entre os animais (Becker et al., 2016; Sampaio & Freire, 2016).

Em alternativa ao transporte real dos animais, em condições experimentais, pode ser realizada uma simulação do procedimento de transporte, denominado transporte simulado. O transporte simulado visa replicar as condições do transporte convencional de peixes, de forma que os animais são acondicionados em sacos plásticos e colocados juntos em um mesmo recipiente (Figura 1). Durante o período do transporte simulado, tais recipientes são movimentados horizontalmente, em seguida, cada embalagem também é agitada individualmente. A movimentação do recipiente e das embalagens é realizada com força suficiente para promover a agitação da água nos sacos plásticos sem que os peixes percam o equilíbrio na coluna d'água. Este processo é repetido a cada 30 min para simular as condições de transporte em um veículo convencional (Pramod et al., 2010b; Silva et al., 2018; He et al., 2020; Vanderzwalmen et al., 2020).



Figura 1. Recipientes onde são acondicionados os sacos com peixes durante o transporte simulado. Fonte: Autor

Capítulo único

Título:

Transporte de tambaqui *Colossoma macropomum* (Cuvier 1816) em diferentes densidades de carga com uso do óleo essencial de *Aloysia citrodora* Paláu

Autores: Castro Neto, O. P.; Santos, A. A.; Rocha, A. S.; Silva, P. J.;
Oliveira, I.S.; Copatti, C.E.

A ser submetido para: Aquaculture (ISSN: 1873-5622)

RESUMO

Objetivou-se com este estudo avaliar a eficiência do uso do óleo essencial de *Aloysia citrodora* (OEAC) (48% citral e 19% limoneno) na anestesia e no transporte de tambaqui (*Colossoma macropomum*) em duas diferentes densidades de carga (DC). Para indução e recuperação anestésica foram testadas as concentrações 0, 10, 25, 50, 100, 150, 200 e 250 $\mu\text{L OEAC L}^{-1}$. Para avaliação do transporte simulado (6 h), foram testadas as concentrações de 0 e 20 $\mu\text{L OEAC L}^{-1}$ em DC baixa (DCB, 65 g L^{-1}) e DC padrão (DCP, 130 g L^{-1}). Também foi avaliada a frequência ventilatória (FV) por 6 h com as mesmas concentrações usadas no transporte simulado. Os peixes foram anestesiados a partir da concentração de 50 $\mu\text{L OEAC L}^{-1}$ e, abaixo desta concentração, ocorreram apenas os estágios de sedação leve e profunda. Os melhores tempos para anestesia ($141,83 \pm 13,21$ s) e recuperação parcial ($82,17 \pm 17,71$ s) e total ($160,00 \pm 13,48$ s) foram obtidos na concentração de 250 $\mu\text{L OEAC L}^{-1}$. O uso de 20 $\mu\text{L OEAC L}^{-1}$ durante o transporte promoveu uma menor alteração dos parâmetros hematológicos (concentração de hemácias, hemoglobina, hematócrito, leucócitos totais) e uma redução da atividade de aspartato aminotransferase no fígado em ambas as DC. Adicionalmente, o transporte em DCP (independente de usar OEAC) promoveu um aumento nos valores de glicose sanguínea e de glicogênio hepático, enquanto em DCB houve uma redução da atividade de alanina aminotransferase em relação a DCP. Nesta mesma concentração, o uso de OEAC promoveu uma maior FV a partir de 1 h. Em conclusão, apesar de acarretar um aumento na FV, a concentração de 20 $\mu\text{L OEAC L}^{-1}$ pode ser utilizada no transporte de tambaqui por até 6 h por causar menos alterações nos parâmetros hematológicos e bioquímicos destes animais durante o transporte.

Palavras-chave: anestesia, frequência ventilatória, glicose, glicogênio, sedação.

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the effectiveness of using the essential oil from *Aloysia citrodora* (EOAC) (48% citral and 19% limonene) in the anesthesia and transportation of tambaqui (*Colossoma macropomum*) at two different cargo densities (CD). The concentrations of 0, 10, 25, 50, 100, 150, 200, and 250 $\mu\text{L EOAC L}^{-1}$ were tested for anesthesia induction and recovery. For the assessment of simulated transportation (6 h), concentrations of 0 and 20 $\mu\text{L EOAC L}^{-1}$ were tested at low CD (LCD, 65 g L^{-1}) and standard CD (SCD, 130 g L^{-1}). The ventilatory frequency (VF) was also evaluated over 6 h using the same concentrations as in the simulated transportation. The fish were anesthetized at concentrations of 50 $\mu\text{L EOAC L}^{-1}$ and above, while at concentrations below this level, only the stages of light and deep sedation occurred. The best times for anesthesia (141.83 ± 13.21 s) and partial (82.17 ± 17.71 s) and total recovery (160.00 ± 13.48 s) were obtained at a concentration of 250 $\mu\text{L EOAC L}^{-1}$. The use of 20 $\mu\text{L EOAC L}^{-1}$ during transportation resulted in less alteration of hematological parameters (erythrocyte count, hemoglobin, hematocrit, total leukocytes) and a reduction in aspartate aminotransferase activity in the liver at both CD. Additionally, transportation at SCD (regardless of EOAC use) led to increased blood glucose and hepatic glycogen levels, while in LCD, there was a reduction in alanine transaminase activity compared to SCD. At this same concentration, using EOAC led to a higher VF starting from 1 h. In conclusion, although it caused an increase in VF, the concentration of 20 $\mu\text{L EOAC L}^{-1}$ can be used in the transportation of tambaqui for up to 6 h as it resulted in less impact on the hematological and biochemical parameters of these animals during transportation.

Keywords: anesthesia; ventilatory frequency; glucose; glycogen; sedation.

Introdução

O tambaqui [*Colossoma macropomum* (Cuvier 1816)] pertence à família Serrasalminidae, ordem Characiformes, e é nativo das bacias Amazônica e Orinoco. No Brasil, o tambaqui foi a segunda espécie mais exportada (total de 79 ton) no ano de 2023, perdendo apenas para tilápia do Nilo [*Oreochromis niloticus* (L. 1758)] (EMBRAPA, 2024). É uma espécie onívora que possui características que facilitam sua criação em cativeiro como a boa absorção de nutrientes, boa performance reprodutora e alta resistência a hipóxia, devido a presença de expansões labiais que auxiliam na captação de oxigênio na superfície da água (Valladão et al., 2018; Felix e Silva et al., 2020; Neves et al., 2020).

A produção e a comercialização de peixes comerciais, como o tambaqui, adicionam fatores de estresse, principalmente decorrente do transporte e do manuseio dos mesmos (Stevens et al., 2017). Durante o transporte, é priorizada uma maior densidade de carga (DC) em vista de um maior proveito econômico, entretanto, o estresse fisiológico e a mortalidade advindos da maior DC podem ser prejudiciais ao bem-estar animal (Sampaio & Freire, 2016). A DC durante o transporte é um fator que afeta tanto os parâmetros de qualidade da água, como o consumo de oxigênio e produção e acúmulo de resíduos nitrogenados nas embalagens, quanto a fisiologia e o metabolismo dos animais (Hong et al., 2019; Lima et al., 2020). Portanto, uma menor DC durante o transporte poderia ser benéfica para o bem-estar e sobrevivência dos peixes.

Dentre os métodos adotados para redução do estresse proveniente dos procedimentos rotineiros em pisciculturas, o uso de óleos essenciais (OE) como anestésicos em peixes tem se mostrado uma alternativa viável devido ao seu baixo custo, fácil obtenção e biodegradabilidade, capaz de promover uma redução do estresse dos animais durante atividades rotineiras de pisciculturas (Taheri Mirghaed et al., 2018; Aydin & Barbas, 2020; Copatti et al., 2024). Em adição, durante o transporte, o uso de OE para promover sedação tem mostrado benefícios para a manutenção dos parâmetros de qualidade da água (Becker et al., 2016; Oliveira et al., 2019) e para a saúde dos peixes (Sena et al., 2016; Oliveira et al., 2022).

Dentre as espécies de plantas cujo OE é estudado para anestesia de peixes, destaca-se *Aloysia citrodora* Paláu (sinonímia de *Aloysia tryphilla*), popularmente utilizada na medicina tradicional devido a seu potencial anestésico, ansiolítico, neuroprotetor e antimicrobiano. O OE de *A. citrodora* (OEAC) geralmente contém citral, limoneno ou 1,8-cineol como compostos químicos majoritários (Bahramsoltani et al., 2018). O OEAC tem

apresentado resultados promissores para anestesia e manejo de peixes como tilápia do Nilo, tambaqui, jundiá [*Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard 1824)] e carpa capim [*Ctenopharyngodon idella* (Valenciennes 1844)] (Teixeira et al., 2017; Brandão et al., 2021; Santos et al., 2022) e para sedação durante o transporte de tilápia do Nilo (Teixeira et al., 2018) e jundiá (Parodi et al., 2014; Zeppenfeld et al., 2014)

Diante disto, no presente estudo foi avaliado o OEAC e seu potencial anestésico, bem como seu efeito na frequência ventilatória (FV) e em parâmetros bioquímicos e hematológicos durante o transporte simulado de tambaqui em duas diferentes DC.

Material e métodos

Aquisição e composição do óleo essencial

O OEAC (Tabela 1) foi extraído das folhas de plantas cultivadas na Universidade Federal de Santa Maria, campus Frederico Westphalen, RS, Brasil. A extração foi feita por meio de hidrodestilação por 2 h utilizando aparato de Clevenger, seguida de análise cromatográfica para determinação da composição química. A análise foi realizada por um cromatógrafo a gás GC-MS TIC com um detector de ionização por chama. Os constituintes do OE foram identificados com base no índice de retenção e nos modelos de fragmentação do espectro de massa através do programa Agilent ChemStation e do banco de dados NIST (Burgess et al., 2016). O OEAC foi armazenado em frascos âmbar e mantidos em freezer (-20 °C) até o seu uso.

Tabela 1. Composição química (%) do óleo essencial de *Aloysia citrodora* (OEAC).

Componente químico	OEAC
Limoneno	19,00
β -Cis-ocimeno	0,46
β -Linalol	0,17
Mirtenol	0,49
2-Pinen-10-ol	1,17
Cis-citral	20,68
Trans-geraniol	0,34
β -Citral	27,66
Acetato de geraniol	2,10
Cariofileno	7,32
α -Curcumeno	5,47
Cis- α -bisaboleno	1,88
Zingibereno	0,86
δ -Cadineno	0,11
Espatulenol	2,46
Óxido de cariofileno	5,78
δ -Cadinol	1,07
Total identificado	96,65

Aquisição e condições de manutenção dos animais

Os peixes ($n = 193$) utilizados nos experimentos foram adquiridos da Estação de Piscicultura Bahia Pesca, Camaçari, BA, Brasil. Os animais foram mantidos em aclimação por duas semanas em três tanques de 250 L em sistema semi-estático com aeração constante, filtros físicos e biológicos e trocas de água periódicas no Laboratório de Estudo e Fisiologia da Fauna Aquática (LEFFA) do Instituto de Biologia da Universidade Federal da Bahia (IBIO-UFBA). Durante a aclimação eles foram alimentados diariamente com ração comercial (36.0% proteína bruta; 3,042 kcal kg⁻¹ energia digestível; Nutripiscis TR - Presence, Brazil).

Foram mantidos estáveis os seguintes parâmetros de qualidade da água (kit da Alfatecnoquímica, Florianópolis, SC, Brazil): oxigênio dissolvido ($> 6,0$ mg O₂ L⁻¹); amônia total (0,15 mg N-NH₃ L⁻¹); temperatura (28,0 °C); pH (7,0); nitrito (0,02 mg N-NO₂ L⁻¹); dureza (120 mg CaCO₃ L⁻¹) e alcalinidade (40 mg CaCO₃ L⁻¹). O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais do IBIO (CEUA-IBIO) sob registro 01/2024.

Indução e recuperação anestésica

Foram testadas as concentrações de 10, 25, 50, 100, 150, 200 e 250 µL OEAC L⁻¹, diluído em etanol (99,8%) na proporção 1:10 para facilitar a solubilização em água. Foram realizados dois tratamentos controle, um contendo apenas água e outro contendo água e etanol na maior concentração utilizada na diluição (2.250 µL L⁻¹). Para cada tratamento foram utilizados 6 exemplares de tambaqui (4,32 ± 0,61g, 6,62 ± 0,30 cm; $n = 54$).

Foram colocados dois peixes por vez em aquários de 2 L. Os animais permaneceram nos aquários até serem considerados anestesiados ou ter decorrido o tempo de 30 min. Os animais foram considerados em estágio de sedação leve ao apresentarem a redução de resposta a estímulos e em sedação profunda ao apresentarem perda parcial de equilíbrio e natação errática; anestesiados ao apresentarem perda total de equilíbrio e ausência de resposta a estímulos (adaptado de Small, 2003). Os peixes do grupo controle foram submetidos aos mesmos procedimentos.

Após esta etapa, os animais que alcançaram o estágio de anestesia foram transferidos para aquários de 4 L contendo apenas água, livre de OEAC, para avaliação da recuperação anestésica. Os animais foram considerados parcialmente recuperados ao apresentarem equilíbrio similar aos grupos controle e, totalmente recuperados ao apresentarem natação similar aos grupos controle (adaptado de Hikasa et al., 1986). Em seguida, todos os animais

de um mesmo tratamento foram acondicionados em aquários de 20 L com aeração constante para avaliação da sobrevivência até 72 h após a recuperação da indução anestésica.

Transporte simulado

Com base nos resultados do experimento de indução e recuperação anestésica, além de testes pilotos testando a exposição de outros peixes não utilizados anteriormente por 6 h com níveis de 10, 15, 20 e 25 $\mu\text{L OEAC L}^{-1}$ ($n = 6$ por concentração; n total = 24), foi estabelecida a concentração de 20 $\mu\text{L OEAC L}^{-1}$ para o experimento de transporte simulado. Esta concentração foi capaz de promover sedação leve sem causar sedação profunda ou anestesia nos peixes por um período de 6 h. Neste experimento, onde foram utilizados animais não utilizados nos experimentos anteriores, os peixes foram distribuídos em embalagens plásticas (100 x 45 cm) contendo 5 L de água e o restante sendo preenchido com oxigênio (20 L) com ou sem adição de 20 $\mu\text{L OEAC L}^{-1}$.

Neste experimento, foram avaliadas duas densidades de carga. Estudos prévios com uso de OE para o transporte de peixes em embalagens plásticas têm utilizado DC entre 100 e 170 g L^{-1} (Becker et al., 2012; Sena et al., 2016; Hohlenwerger et al., 2016; Teixeira et al., 2018). Para o transporte de tambaqui, Gomes et al. (2003) avaliaram DC entre 78 e 312 g L^{-1} , e concluíram que para o transporte de até 10 h de duração, 78 g L^{-1} foi a melhor concentração. Assim, este estudo definiu 65 g L^{-1} ($n = 5$ peixes) como uma DC baixa (DCB) e 130 g L^{-1} ($n = 10$ peixes), como uma DC padrão (DCP).

Para cada DC, foi avaliado um tratamento controle contendo apenas água e outro contendo água + 20 $\mu\text{L OEAC L}^{-1}$, totalizando assim 4 tratamentos distintos (denominados Controle-DCB, Controle-DCP, OEAC-DCB e OEAC-DCP). Os tratamentos foram realizados em triplicata, totalizando 12 embalagens. Além disto, foram utilizados 9 peixes que não foram transportados para avaliação de um controle negativo. Assim, foram utilizados 99 peixes neste experimento.

Para simular o transporte convencional de peixes, os recipientes em que ficaram acondicionados os sacos plásticos com os animais foram movimentados horizontalmente a cada 20 min. Em seguida, cada embalagem também foi agitada individualmente. A movimentação do recipiente e das embalagens foi com força suficiente para promover a agitação da água nos sacos plásticos sem que os peixes perdessem o equilíbrio na coluna d'água (adaptado de Pramod et al., 2010). Ao término do transporte, os peixes foram transferidos para aquários de 30 L com água pura (sem OEAC) para avaliação da sobrevivência por 72 h.

Foram mensurados parâmetros de qualidade da água (oxigênio, amônia total, temperatura, pH, nitrito, dureza e alcalinidade) antes e após o transporte, com auxílio de kit de qualidade da água (Alfatecnoquímica).

Coleta de tecidos

No experimento de transporte simulado, foram coletadas duas alíquotas de sangue de três peixes por embalagem ($n = 9$ por tratamento) além de outros 9 peixes não transportados. Amostras de sangue venoso-arterial foram obtidas da veia caudal usando uma seringa de 2,0 mL com 10 μ L de heparina 5.000 UI como anticoagulante. A primeira alíquota de 1,0 mL, coletada em microtubos de polietileno, foi utilizada para obtenção de plasma para as análises bioquímicas, enquanto a segunda alíquota, em microtubos de polipropileno de 0,5 mL contendo heparina como anticoagulante, para análise hematológica. Após a coleta de sangue, os animais foram eutanasiados por meio de atordoamento seguido de secção medular, de acordo com as diretrizes do CONCEA (2018), e foi realizada a coleta de fígado.

Para as análises hematológicas, o sangue foi mantido refrigerado a 2 °C, sendo as análises realizadas imediatamente após a coleta de sangue. Para as análises bioquímicas, o sangue foi centrifugado a 4000 x g a 4 °C (5 min) para obtenção do plasma imediatamente após a coleta. As amostras de plasma e fígado foram refrigeradas (-20 °C) até a realização das análises.

Análises hematológicas

Os eritrócitos foram quantificados em câmara de Neubauer ($1 \times 10^6 \mu\text{L}^{-1}$) com auxílio de um microscópio óptico binocular (400x). A contagem de hematócrito foi realizada em duplicata utilizando tubos capilares heparinizados, centrifugados a 12000 x g a 4 °C (5 min). A concentração de hemoglobina foi determinada através do método de cianometahemoglobina através de espectrofotometria de absorção. VCM (Volume corpuscular médio), HCM (Hemoglobina corpuscular média) e CHCM (Concentração de hemoglobina corpuscular média) foram calculados de acordo com as seguintes fórmulas:

$$\text{VCM} = (\text{Hematócrito} \times 10) / \text{N}^\circ \text{ de Eritrócitos} (\times 10^6 \mu\text{L}^{-1});$$

$$\text{HCM} = (\text{Taxa de Hemoglobina} \times 10) / \text{N}^\circ \text{ de Eritrócitos} (\times 10^6 \mu\text{L}^{-1});$$

$$\text{CHCM} = (\text{Taxa de concentração de Hemoglobina} \times 100) / \text{Hematócrito}.$$

A contagem total de leucócitos foi realizada por método colorimétrico. Para isso, foram confeccionadas extensões sanguíneas que foram coradas com May-Grunwald-Giemsa. Em seguida, de cada extensão, foram quantificadas 2000 células para contagem diferencial de leucócitos, definindo a porcentagem de cada componente de interesse (heterófilos, eosinófilos, linfócitos e monócitos). As análises hematológicas foram baseadas em Tavares-Dias (2015).

Análises bioquímicas

Glicose (mg dL^{-1}), aspartato aminotransferase (AST) (U L^{-1}), alanina aminotransferase (ALT) (U L^{-1}), colesterol total (mg dL^{-1}), HDL (mg dL^{-1}), triglicérides (mg dL^{-1}), proteínas totais (g dL^{-1}) e albumina (g dL^{-1}) do plasma foram determinados através de método colorimétrico enzimático utilizando-se o kit comercial Wiener[®] (São Paulo, SP, Brasil). O VLDL e LDL plasmático foram calculados de acordo com a fórmula de Friedewald et al. (1972):

$$\text{LDL} = \text{Colesterol total} - \text{HDL} - \left(\frac{\text{Triglicerídeos}}{5} \right).$$

As amostras de fígado (100 mg) foram homogeneizadas em solução tampão (10 mM fosfato/20 mM tris, pH 7.0 a 4 °C) através de homogeneizador mecânico. Foram utilizados 20 μL da amostra, misturada a 1,0 mL de reagente de Biureto. Os níveis de aspartato aminotransferase (AST) e proteína total foram determinados através do kit comercial (Labtest[®]) e espectrofotômetro, com comprimento de onda 545 e 340 nm, respectivamente (Bel Spectro S-2000).

O glicogênio hepático foi quantificado de acordo com Bidinotto et al. (1997). Foi adicionado 1,0 mL de KOH (6 N) a 50 mg de tecido hepático, sendo incubado por 2 min a 100 °C. Após esta etapa, 250 μL de etanol e 100 μL de K_2SO_4 (10%) foram adicionados a 100 μL da amostra, sendo centrifugada a 2000 g por 3 min a 4 °C. Em seguida, foi realizada a ressuspensão do precipitado em 2 mL de água destilada e 100 μL da amostra foram transferidos para uma cubeta. Por fim, foram utilizados 250 μL de fenol e 1,0 mL de H_2SO_4 para parar a reação, sendo feita a leitura em espectrofotômetro a 480 nm.

Frequência ventilatória (FV)

Para avaliação da FV, foi realizado um terceiro experimento usando peixes ($n = 16$) não utilizados nos outros experimentos. Foram utilizados 8 indivíduos no grupo tratamento com $20 \mu\text{L OEAC L}^{-1}$, pois esta foi a concentração utilizada no experimento de transporte simulado. Outros 8 peixes foram usados no grupo controle, contendo apenas água. Foram colocados dois indivíduos por aquário de 2 L, onde permaneceram com aeração constante, e foram realizadas filmagens para posterior avaliação da FV nos tempos 0; 0,5; 1; 2; 3, 4, 5 e 6 h de exposição. A FV foi quantificada por contagem visual de movimentos operculares/bucais ao decorrer de 1 min (Hohlenwerger et al., 2017).

Análise estatística

Os dados estão expressos em média $\pm$ erro padrão. Os testes de Levene e Shapiro-Wilk mostraram a homogeneidade das variâncias e a normalidade dos dados, respectivamente. Os dados do experimento de indução e recuperação anestésica foram avaliados através de regressão potência entre as concentrações de OEAC e os estágios de sedação leve, sedação profunda, anestesia e recuperação anestésica parcial e total. Para os experimentos de transporte e FV foi realizada ANOVA de duas vias (DC x tratamento e tempo x tratamento, respectivamente). A variação significativa foi determinada usando o teste de intervalo múltiplo de Duncan ($p < 0,05$). No experimento de transporte, as comparações com os peixes não transportados foram realizadas por meio do teste de Dunnett. O nível mínimo de significância foi 95% ($p < 0,05$).

Resultados

Indução e recuperação anestésica

Os tambaquis expostos a 10 e $25 \mu\text{L OEAC L}^{-1}$ atingiram apenas os estágios de sedação leve e profunda, sendo registrada anestesia nas concentrações a partir de $50 \mu\text{L L}^{-1}$ (Figura 1). Não houve sedação ou anestesia nos grupos controles.

Foi verificada regressão potência nos estágios de sedação leve (Figura 1A), sedação profunda (Figura 1B), e anestesia (Figura 1C), na qual quanto maior a concentração utilizada, menor o tempo para ocorrer sedação leve, profunda ou anestesia. Não foi verificada regressão entre os tempos de recuperação parcial ou total (Figura 1D e 1E) e as diferentes concentrações de OEAC.

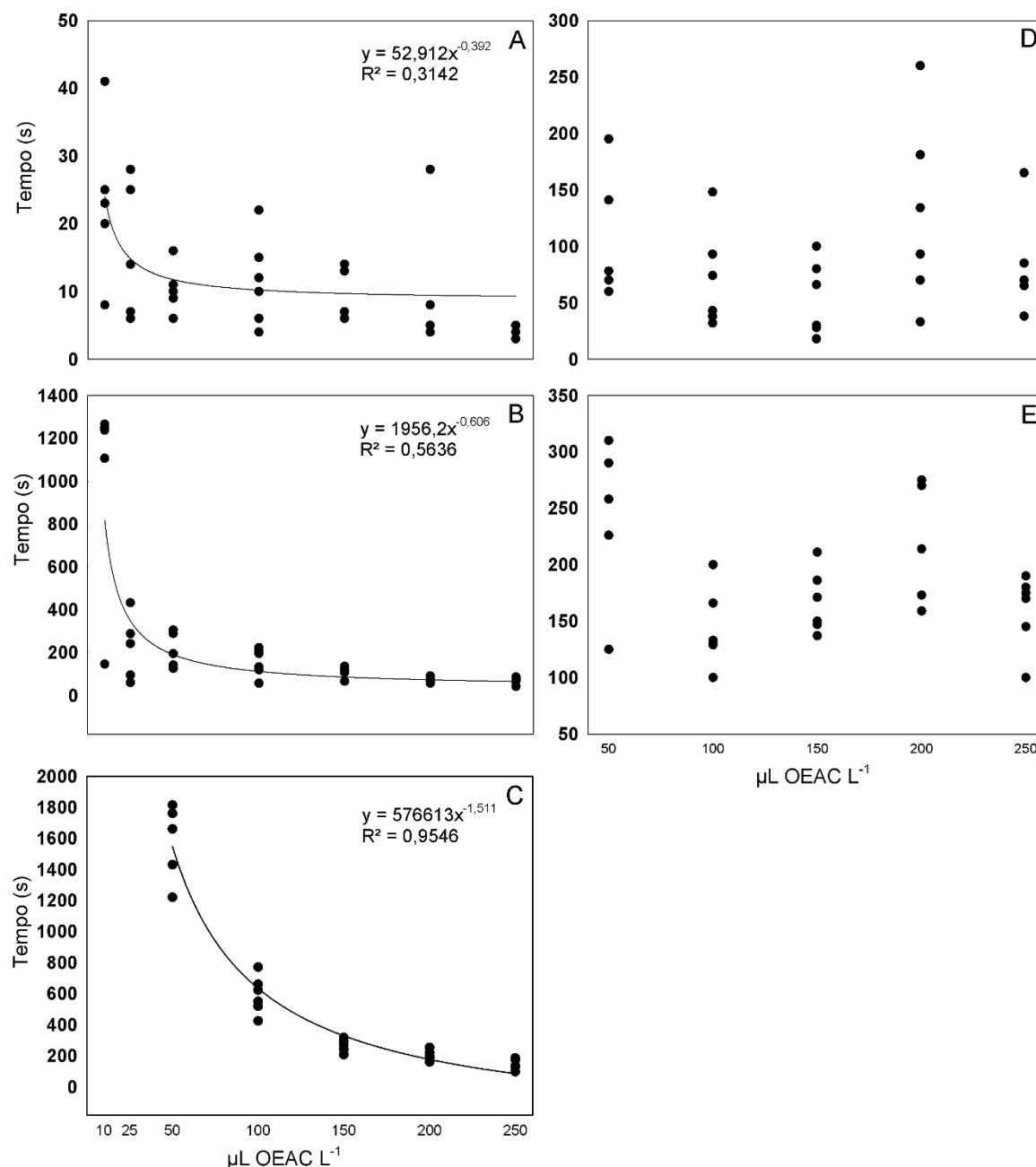


Figura 1. Tempo para sedação leve (A), sedação profunda (B), anestesia (C) e recuperação anestésica parcial (D) e total (E) de tambaqui (*Colossoma macropomum*), de acordo com a concentração do óleo essencial de *Aloysia citrodora* (OEAC) (n = 6 peixes por concentração).

Transporte simulado - Qualidade da água

Após o transporte simulado, nas embalagens dos animais expostos ao OEAC (20 $\mu\text{L L}^{-1}$) ou transportados em água sem OEAC, verificou-se um aumento significativo nos níveis de oxigênio dissolvido e amônia total e uma redução significativa no valor de pH em relação ao início do transporte ($p < 0,05$). Entre os grupos transportados, verificou-se que a alcalinidade foi significativamente menor no tratamento OEAC-DCB em relação aos tratamentos Controle-DCB e OEAC-DCP, além da concentração de amônia ser

significativamente menor no grupo OEAC-DCB que no grupo OEAC-DCP ($p < 0,05$). Não houve diferença significativa para dureza, nitrito e pH entre os tratamentos que foram transportados ($p > 0,05$) (Tabela 2).

Tabela 2. Parâmetros de qualidade da água após o transporte simulado de 6 h de tambaqui (*Colossoma macropomum*) com adição ou não de óleo essencial de *Aloysia citrodora* (OEAC) (20 $\mu\text{L L}^{-1}$) em DC baixa (DCB) e padrão (DCP).

Parâmetros	Não Transportado	Transporte simulado (6 h)			
		Controle DCB	Controle DCP	OEAC DCB	OEAC DCP
OD	4,50±1,22	8,73±0,20 ^{Aa*}	8,74±0,22 ^{Aa*}	8,71±0,18 ^{Aa*}	8,75±0,20 ^{Aa*}
Alcalinidade	42,50±2,04	45,00±4,08 ^{Aa}	45,00±4,08 ^{Aa}	35,00±4,08 ^{Bb}	45,00±4,08 ^{Aa}
Dureza	115,00±4,08	120,00±8,16 ^{Aa}	125,00±4,08 ^{Aa}	125,00±4,08 ^{Aa}	115,00±4,08 ^{Aa}
Amônia total	0,13±0,02	2,25±0,20 ^{Aa*}	2,75±0,20 ^{Aa*}	2,00±0,4 ^{Ab*}	2,75±0,20 ^{Aa*}
Nitrito	0,013±0,01	0,013±0,01 ^{Aa}	0,025±0,004 ^{Aa}	0,013±0,010 ^{Aa}	0,025±0,004 ^{Aa}
Temperatura	28,63±0,10	28,83±0,14 ^{Aa}	28,88±0,10 ^{Aa}	28,90±0,08 ^{Aa}	28,85±0,12 ^{Aa}
pH	6,90±0,08	6,20±0,20 ^{Aa*}	6,25±0,15 ^{Aa*}	6,21±0,23 ^{Aa*}	6,13±0,10 ^{Aa*}

Oxigênio dissolvido (OD) está expresso em $\text{mg O}_2 \text{ L}^{-1}$. Alcalinidade e dureza estão expressas em $\text{mg L}^{-1} \text{ CaCO}_3$. Amônia total está expressa em $\text{mg N-NH}_3 \text{ L}^{-1}$. Nitrito está expresso em $\text{mg N-NO}_2 \text{ L}^{-1}$. Temperatura está expressa em $^{\circ}\text{C}$. Os dados são apresentados como média $\pm$ erro padrão da média (teste de Duncan, $p < 0,05$). Letras maiúsculas distintas indicam diferença significativa entre os tratamentos numa mesma DC. Letras minúsculas distintas indicam diferença significativa entre as densidades de carga para um mesmo tratamento. * indica diferença significativa em relação ao grupo não transportado (teste de Dunnet).

Transporte simulado - Análises hematológicas

Todos os tratamentos pós-transporte resultaram em uma redução no percentual de heterófilos e um aumento no percentual de linfócitos ($p < 0,05$) em relação ao início do transporte. Adicionalmente, o valor de hemoglobina foi significativamente superior nos grupos Controle-DCB e Controle-DCP em relação ao início do transporte ($p < 0,05$). O Controle-DCP também foi significativamente superior ao início do transporte para os valores de hemácias, hematócrito e leucócitos ($p < 0,05$). Já o tratamento OEAC-DCB mostrou um valor de CHCM significativamente maior do que o grupo não transportado ($p < 0,05$) (Tabela 3).

O número de hemácias foi significativamente maior nos peixes do tratamento Controle-DCP em relação aos demais tratamentos ($p < 0,05$). Adicionalmente, o nível de hemácias no grupo OEAC-DCB foi significativamente menor em relação ao grupo Controle-DCB ($p < 0,05$). O valor do CHCM foi significativamente inferior no grupo OEAC-DCP do que no grupo OEAC-DCB ($p < 0,05$), enquanto os valores de hemoglobina e hematócrito nos tratamentos com OEAC foram significativamente menores aos valores encontrados nos tratamentos Controle-DCB e Controle-DCP ($p < 0,05$) (Tabela 3).

Independente da DC, o número de leucócitos totais nos grupos com OEAC foi significativamente menor do que nos grupos Controle-DCB e Controle-DCP ($p < 0,05$). O

valor de heterófilos no tratamento OEAC-DCB foi significativamente menor do que no Controle-DCB. O valor de linfócitos nos tratamentos OEAC-DCB e Controle-DCP foi significativamente superior do que no tratamento Controle-DCB ($p < 0,05$).

Tabela 3. Parâmetros hematológicos após o transporte simulado de 6 h de tambaqui (*Colossoma macropomum*) com adição ou não de óleo essencial de *Aloysia citrodora* (OEAC) ($20 \mu\text{L L}^{-1}$) em densidade de carga baixa (DCB) e padrão (DCP).

Variáveis	Não Transportado	Transporte simulado (6 h)			
		Controle DCB	Controle DCP	OEAC DCB	OEAC DCP
Hemácias	1,60±0,04	1,77±0,05 ^{Ab}	1,96±0,06 ^{Aa*}	1,53±0,08 ^{Ba}	1,50±0,03 ^{Ba}
Hemoglobina	7,33±0,22	8,40±0,22 ^{Aa*}	9,01±0,39 ^{Aa*}	7,15±0,34 ^{Ba}	6,90±0,19 ^{Ba}
Hematócrito	21,33±0,80	23,33±0,71 ^{Aa}	25,50±1,33 ^{Aa*}	19,50±1,18 ^{Ba}	20,16±0,60 ^{Ba}
VCM	133,83±2,46	131,16±1,93 ^{Aa}	129,50±3,53 ^{Aa}	126,83±2,83 ^{Aa}	134,50±1,72 ^{Aa}
HCM	46,16±0,65	47,17±0,94 ^{Aa}	45,83±0,65 ^{Aa}	46,83±0,70 ^{Aa}	46,00±0,68 ^{Aa}
CHCM	34,66±0,49	36,00±0,51 ^{Aa}	35,50±0,61 ^{Aa}	37,00±0,81 ^{Aa*}	34,00±0,25 ^{Ab}
Leucócitos totais	2,66±2,49	3,26±2,83 ^{Aa}	3,83±2,16 ^{Aa*}	2,45±2,31 ^{Ba}	2,31±9,96 ^{Ba}
Heterófilos	54,66±2,27	47,17±0,94 ^{Aa*}	44,33±0,84 ^{Aa*}	42,00±1,18 ^{Ba*}	42,17±0,83 ^{Aa*}
Eosinófilos	1,16±0,16	1,33±0,21 ^{Aa}	1,16±0,16 ^{Aa}	1,50±0,22 ^{Aa}	1,33±0,21 ^{Aa}
Linfócitos	42,83±2,10	50,33±0,88 ^{Bb*}	53,33±0,99 ^{Aa*}	55,16±0,91 ^{Aa*}	55,16±0,87 ^{Aa*}
Monócitos	1,33±0,21	1,16±0,16 ^{Aa}	1,16±0,16 ^{Aa}	1,13±0,21 ^{Aa}	1,33±0,21 ^{Aa}

Concentração de hemácias está expressa em $\times 10^6 \mu\text{L L}^{-1}$. Hematócrito, heterófilos, linfócitos, monócitos e eosinófilos estão expressos em %. Hemoglobina e CHCM (concentração de hemoglobina corpuscular média) estão expressas em g dL^{-1} . VCM (volume corpuscular médio) está expresso em fl. HCM (hemoglobina corpuscular média) está expressa em pg. Leucócitos totais está expresso em $\times 10^4 \mu\text{L L}^{-1}$. Os dados são apresentados como média $\pm$ erro padrão da média (teste de Duncan, $p < 0,05$). Letras maiúsculas distintas indicam diferença significativa entre os tratamentos numa mesma densidade de carga. Letras minúsculas distintas indicam diferença significativa entre as densidades de carga para um mesmo tratamento. * indica diferença significativa em relação ao grupo não transportado (teste de Dunnet).

Transporte simulado - Análises bioquímicas

No grupo Controle-DCB, o nível de albumina e a atividade de ALT do plasma foram significativamente menores do que no grupo não transportado ($p < 0,05$), enquanto o nível de glicose plasmática foi significativamente maior nos tratamentos Controle-DCP e OEAC-DCP ($p < 0,05$) em relação ao antes do transporte. Por fim, o nível de HDL do plasma dos peixes transportados com OEAC-DCB foi significativamente maior em relação aos peixes não transportados ($p < 0,05$) (Tabela 4).

O nível de proteína total do plasma foi significativamente superior no tratamento Controle-DCP em relação ao tratamento Controle-DCB ($p < 0,05$). O nível de albumina plasmática foi significativamente inferior no tratamento Controle-DCB em relação aos outros tratamentos ($p < 0,05$). A atividade plasmática de ALT foi significativamente inferior no tratamento Controle-DCB do que no Controle-DCP ($p < 0,05$), e no OEAC-DCB do que no OEAC-DCP ($p < 0,05$). O nível de glicose foi significativamente maior nos tratamentos Controle-DCP em relação ao Controle-DCB e em OEAC-DCP em relação a OEAC-DCB ($p < 0,05$) (Tabela 4).

Tabela 4. Parâmetros bioquímicos do plasma após o transporte simulado de 6 h de tambaqui (*Colossoma macropomum*) com adição ou não de óleo essencial de *Aloysia citrodora* (OEAC) (20 $\mu\text{L L}^{-1}$) em densidade de carga baixa (DCB) e padrão (DCP).

Variáveis	Não Transportado	Transporte simulado (6 h)			
		Controle DCB	Controle DCP	OEAC DCB	OEAC DCP
Proteína total	2,18±0,05	2,10±0,11 ^{Ab}	2,33±0,08 ^{Aa}	2,10±0,02 ^{Aa}	2,24±0,06 ^{Aa}
Albumina	0,60±0,03	0,32±0,08 ^{Bb*}	0,50±0,09 ^{Aa}	0,50±0,07 ^{Aa}	0,50±0,04 ^{Aa}
AST	73,70±5,94	64,30±7,83 ^{Aa}	73,30±9,66 ^{Aa}	55,00±4,42 ^{Aa}	70,70±11,16 ^{Aa}
ALT	10,70±0,61	6,40±1,05 ^{Ab*}	9,50±0,89 ^{Aa}	8,30±0,42 ^{Ab}	11,90±1,47 ^{Aa}
Colesterol total	101,50±2,60	99,70±3,92 ^{Aa}	111,20±3,86 ^{Aa}	97,40±12,66 ^{Aa}	94,30±10,85 ^{Aa}
HDL	4,00±0,52	5,80±0,48 ^{Aa}	4,80±0,79 ^{Aa}	6,10±0,46 ^{Aa *}	5,60±0,53 ^{Aa}
VLDL	11,90±0,53	10,60±0,29 ^{Aa}	9,30±1,25 ^{Aa}	9,10±1,12 ^{Aa}	9,60±1,3 ^{Aa}
LDL	85,60±2,02	83,20±3,68 ^{Aa}	97,00±4,05 ^{Aa}	82,20±11,51 ^{Aa}	79,10±9,69 ^{Aa}
Triglicérides	59,30±2,67	53,00±1,46 ^{Aa}	46,50±6,25 ^{Aa}	45,60±5,61 ^{Aa}	48,10±6,54 ^{Aa}
Glicose	73,80±2,57	77,80±8,80 ^{Ab}	127,70±7,81 ^{Aa*}	74,90±9,82 ^{Ab}	107,30±5,85 ^{Aa*}

Glicose, triglicérides, colesterol total, HDL e LDL estão expressos em mg dL^{-1} . Proteína total e albumina estão expressas em g dL^{-1} . AST e ALT estão expressas em U L^{-1} . Os dados são apresentados como média $\pm$ erro padrão da média (teste de Duncan, $p < 0,05$). Letras maiúsculas distintas indicam diferença significativa entre os tratamentos numa mesma densidade de carga. Letras minúsculas distintas indicam diferença significativa entre as densidades de carga para um mesmo tratamento. * indica diferença significativa em relação ao grupo não transportado (teste de Dunnet).

A atividade da enzima AST hepática nos grupos transportados (com exceção do Controle-DCP) foi significativamente menor em relação ao grupo não transportado ($p < 0,05$). Em todos os grupos transportados, o nível de proteína total do fígado foi significativamente maior em relação ao grupo não transportado ($p < 0,05$). Por fim, o nível do glicogênio hepático foi significativamente maior nos tratamentos Controle-DCP e OEAC-DCP do que no grupo não transportado ($p < 0,05$) (Tabela 5).

A atividade da enzima AST hepática foi significativamente menor nos tratamentos com OEAC em relação aos tratamentos controle (independente da DC) ($p < 0,05$). O valor de proteína total do fígado foi significativamente maior no grupo OEAC-DCP do que nos demais tratamentos ($p < 0,05$), no grupo OEAC-DCB do que no grupo Controle-DCB ($p < 0,05$) e menor no grupo Controle-DCP do que nos demais tratamentos. O valor do glicogênio hepático foi significativamente inferior no tratamento Controle-DCB em relação aos outros tratamentos ($p < 0,05$) (Tabela 5).

Tabela 5. Parâmetros bioquímicos do fígado após o transporte simulado de 6 h de tambaqui (*Colossoma macropomum*) com adição ou não de óleo essencial de *Aloysia citrodora* (OEAC) (20 $\mu\text{L L}^{-1}$) em densidade de carga baixa (DCB) e padrão (DCP).

Variáveis	Não Transportado	Transporte simulado (6 h)			
		Controle DCB	Controle DCP	OEAC DCB	OEAC DCP
AST	54,75 $\pm$ 2,88	34,45 $\pm$ 3,66 ^{Aa*}	40,92 $\pm$ 3,98 ^{Aa}	22,08 $\pm$ 1,63 ^{Ba*}	18,74 $\pm$ 1,51 ^{Ba*}
Proteína total	0,48 $\pm$ 0,03	0,76 $\pm$ 0,06 ^{Ba*}	0,62 $\pm$ 0,07 ^{Bb*}	1,10 $\pm$ 0,06 ^{Ab*}	1,31 $\pm$ 0,07 ^{Aa*}
Glicogênio	16,90 $\pm$ 1,17	15,83 $\pm$ 1,79 ^{Bb}	25,54 $\pm$ 2,00 ^{Aa*}	23,28 $\pm$ 2,26 ^{Aa}	30,44 $\pm$ 3,78 ^{Aa*}

Proteína total está expressa em g dL⁻¹. AST está expressa em U mg proteína⁻¹. Glicogênio está expresso em nmol glicose g tecido⁻¹. Letras maiúsculas distintas indicam diferença significativa entre os tratamentos numa mesma densidade de carga. Os dados são apresentados como média $\pm$ erro padrão da média (teste de Duncan, $p < 0,05$). Letras maiúsculas distintas indicam diferença significativa entre os tratamentos numa mesma densidade de carga. Letras minúsculas distintas indicam diferença significativa entre as densidades de carga para um mesmo tratamento. * indica diferença significativa em relação ao grupo não transportado (teste de Dunnet).

Frequência ventilatória (FV)

Os valores registrados para FV foram significativamente maiores no grupo sedado com OEAC em relação ao grupo controle (exceto nos tempos 0,5 e 1 h) ($p < 0,05$). No grupo controle, a FV no tempo 0 h foi superior significativamente a todos os outros tempos, exceto 6 h, que por sua vez foi superior a todos os demais tempos (com exceção do tempo 1 h) ($p < 0,05$). Ainda para o grupo controle, a FV no tempo 1 h foi superior significativamente ao tempo 2 h ($p < 0,05$) (Figura 2).

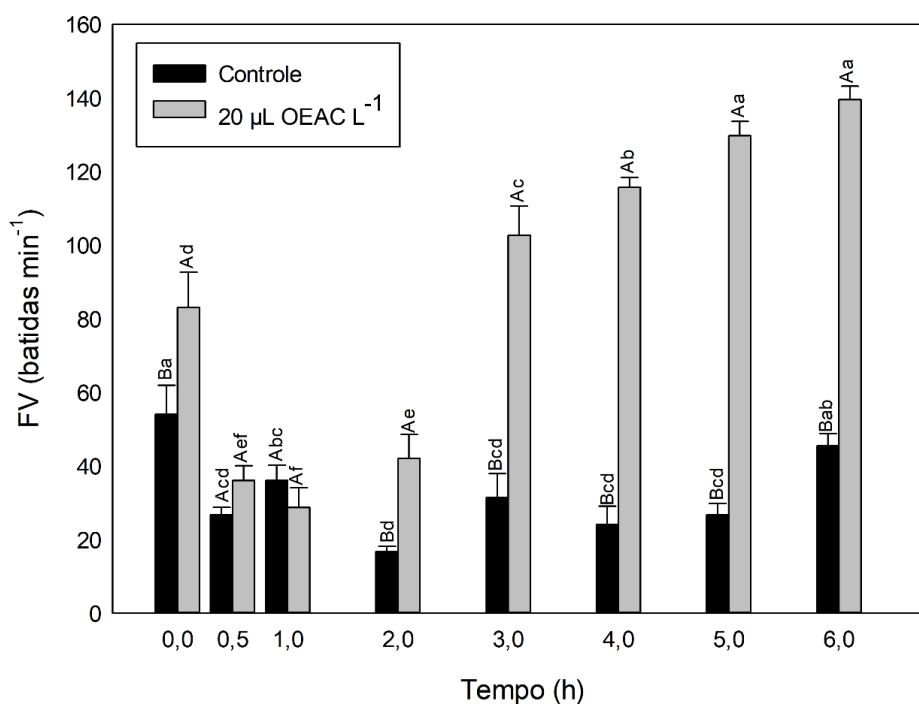


Figura 2. Frequência ventilatória de tambaqui (*Colossoma macropomum*) ao longo de 6 h com adição ou não de óleo essencial de *Aloysia citrodora* (OEAC) (20 $\mu\text{L L}^{-1}$). Os dados são apresentados como média $\pm$ erro padrão da média (teste de Duncan, $p < 0,05$). Letras maiúsculas distintas indicam diferença significativa entre os tratamentos. Letras minúsculas distintas indicam diferença significativa entre os tempos para um mesmo tratamento.

A FV do tratamento OEAC (FV-OEAC) nos tempos 5 e 6 h foi superior significativamente a todos os outros tempos ($p < 0,05$). No tempo 4 h, a FV-OEAC foi significativamente superior aos tempos entre 0 e 3 h ($p < 0,05$). No tempo 3 h, a FV-OEAC foi significativamente superior aos tempos entre 0 e 2 h ($p < 0,05$). No tempo 0 h, a FV-OEAC foi significativamente maior do que o verificado nos tempos 0,5; 1 e 2 h (sendo este último significativamente superior ao tempo 1 h) ($p < 0,05$) (Figura 2).

Discussão

O OEAC utilizado neste estudo é constituído majoritariamente por citral (48,34%), sendo seguido por limoneno (19,00%). Ambos os compostos são comumente encontrados em OE de diferentes espécies de plantas, como *Lippia alba* ((Mill.) N.E.Br. ex Britton & P.Wilson), *Cymbopogon flexuosus* ((Nees) Will.Watson) e *Citrus aurantium* (L.), havendo estudos em relação ao seu potencial uso como anestésicos em peixes (Santos et al., 2017; Lopes et al., 2018; Silva et al., 2019). Em adição, estudos prévios já relataram a importância de citral como constituinte majoritário de OE extraídos de plantas dos gêneros *Lippia* e *Cymbopogon* que possuem capacidade anestésica relatada em tambaqui ($100 \mu\text{L L}^{-1}$) (Silva et al., 2019), jundiá ($150 \mu\text{L L}^{-1}$) (Santos et al., 2017) e tambacu (*Piaractus mesopotamicus* (Holmberg 1887) x *Colossoma macropomum*) ($300 \mu\text{L L}^{-1}$) (Limma-Netto et al., 2016).

O efeito anestésico de OEAC pode ser devido a sua ação nos neurotransmissores. Em estudo com camundongos swiss (*Mus musculus*), o OE de *C. citratus* (71,29% citral) exerceu efeito sobre o sistema GABAérgico (se refere à ação do ácido gama-aminobutírico - GABA), ligando-se a receptores GABA_A de maneira a potencializar o efeito anticonvulsivante, ansiolítico e anestésico do GABA (Costa et al., 2011). Este efeito poderia ser associado ao potencial anestésico do citral, o principal composto químico do OEAC utilizado no presente estudo. Isto ocorre por que os receptores GABA são os principais alvos da ação de anestésicos em animais, resultando na inibição do sistema nervoso central (Johnston et al., 2006; Nesterkina & Kravchenko, 2016). Assim, o citral poderia atuar como um modulador alostérico positivo dos receptores GABA em tambaqui.

O limoneno, por sua vez, é comumente encontrado como constituinte dos OEs de plantas dos gêneros *Lippia*, *Cymbopogon* e *Citrus*, comumente utilizadas na medicina tradicional pelo seu efeito calmante e para tratamento de problemas de origem

gastrointestinal (Vale et al., 1999; Bassolé et al., 2011). Em peixes, o efeito anestésico do OE de *Citrus* já foi demonstrado em jundiá (500 $\mu\text{L L}^{-1}$) (Lopes et al., 2018) e betta [*Betta splendens* (Regan 1910)] (300 $\mu\text{L L}^{-1}$) (Silva et al., 2023). Além disso, estudos acerca do mecanismo de ação do limoneno apontam que o composto possivelmente atua na regulação da função neuronal dopaminérgica e GABAérgica por meio da ativação dos receptores de adenosina A2A. Isto induz consequentemente a liberação de GABA, resultando em um efeito ansiolítico (Song et al., 2021). Desta forma, o limoneno atuaria de maneira complementar à ação do citral, estimulando a liberação de GABA e potencializando seu efeito em células receptoras.

Para ser considerado adequado para o uso em peixes, o anestésico deve ser capaz de promover um rápido efeito de anestesia (< 180 s) e ter rápida recuperação (< 600 s) (Oliveira et al., 2022; Simões-Bueno et al., 2024). Portanto, no corrente estudo, a concentração de 250 $\mu\text{L OEAC L}^{-1}$ foi a concentração cujos tempos de indução (141,83 s) e recuperação anestésica (160,00 s) melhor atenderam os pressupostos de tempo de indução e recuperação anestésica indicados.

Em estudos com OE cujo constituinte majoritário também é o citral, foram encontrados resultados similares que reforçam a eficiência do citral como anestésico. O OE de *L. alba* (55,28% citral) foi eficaz em promover anestesia na concentração de 100 $\mu\text{L L}^{-1}$ ao ser testado em tambaqui (Silva et al., 2019). Em jundiá, os OE de *A. citrodora* (50,19% citral) e *C. flexuosus* (86,37% citral) promoveram anestesia na concentração de 300 $\mu\text{L L}^{-1}$ (Santos et al., 2017). Para tilápia do Nilo, a concentração de 600 $\mu\text{L L}^{-1}$ de OE de *C. flexuosus* (90,45% citral) foi considerada adequada para anestesia (Limma-Netto et al., 2017). A variação observada na concentração de OE entre o nosso estudo e os estudos acima citados, que foi considerada eficaz para promover anestesia, pode ser explicada por fatores como a espécie e tamanho dos animais, condições experimentais, proporção dos compostos nos OE, entre outros, o que pode influenciar na concentração necessária de OE para promover a anestesia dos peixes (Tarkhani et al., 2017).

Além de anestesia, o OE pode contribuir para o transporte de peixes, onde deve-se buscar uma concentração capaz de promover um efeito sedativo, sem impedir a manutenção do equilíbrio, natação e respiração (Cooke et al., 2004; Santos et al., 2020). Portanto, com base nos resultados do presente estudo, uma concentração até 25 $\mu\text{L OEAC L}^{-1}$ poderia ser utilizada para sedação durante o transporte de tambaqui. Este achado avaliado em conjunto a um experimento piloto conduzido neste estudo encontrou a concentração de 20 $\mu\text{L OEAC L}^{-1}$ como aquela indicada para avaliação de transporte simulado por 6 h nestes peixes.

Em estudos prévios onde foi avaliada a sedação durante o transporte, com espécies de peixes como tilápia do Nilo, a concentração recomendada de OE de *A. citrodora* (45,09% citral) para sedação foi de 30 $\mu\text{L L}^{-1}$ (Teixeira et al., 2018). Em tambacu, verificou-se que a concentração de 25 $\mu\text{L L}^{-1}$ de OE de *C. flexuosus* (90,45% citral) foi recomendada para sedação (Limma-Netto et al., 2016). Desta forma, os resultados observados no presente estudo para a concentração utilizada para o transporte se aproximam ao relatado na literatura acima citada. Em adição aos nossos achados, para pesquisas futuras, recomenda-se testar o potencial anestésico do citral e do limoneno de maneira isolada e associados a diferentes outros compostos, a fim de verificar se sua eficiência se dá por conta de um efeito sinérgico com os demais compostos.

Após o transporte, é usualmente esperado que sejam observadas variações nos parâmetros de qualidade da água, como a redução do oxigênio dissolvido e o aumento na concentração de compostos nitrogenados (Sena et al., 2016; Teixeira et al., 2018), devido as atividades fisiológicas realizadas pelos peixes, como respiração e excreção. Neste caso, o uso de anestésicos poderia promover uma redução no metabolismo e, conseqüentemente, na FV destes animais (Becker et al., 2012) e, assim, contribuir para redução no consumo de oxigênio (Hohlenwerger et al., 2017) e na produção de amônia e nitrito, mantendo os parâmetros de qualidade da água estáveis por um maior período (He et al., 2020). Achados similares já foram relatados em estudos prévios que avaliaram o uso de OE de *L. alba* no transporte de tilápia do Nilo (Hohlenwerger et al., 2017) e tambacu (Sena et al., 2016).

Os óleos essenciais podem ter um efeito vasodilatador e afetarem a osmorregulação em peixes, desencadeando uma hiperventilação que tende a se estabilizar com o tempo de exposição (Toni et al., 2014). Ao contrário do que era pressuposto, foi verificado um aumento da FV nos tambaquis anestesiados com OEAC mesmo 6 h após a sedação. Isto deve ter acontecido como uma reação dos animais à exposição ao OEAC. Similarmente, um aumento na FV já foi relatado para jundiá com utilização de eugenol (Becker et al., 2012), OE de *L. alba* (Becker et al., 2012) e OE de *Citrus* (Lopes et al., 2018), pacamã [*Lophiosilurus alexandri* (Steindachner 1876)] com uso de OE de *Ocimum gratissimum* (Boaventura et al., 2020), carpa com OE de *Mentha spicata* (Roohi & Imanpoor, 2015), tilápia do Nilo com eugenol e OE de *O. basilicum* (Ventura et al., 2020), e robalo-peva [*Centropomus parallelus* (Poey 1860)] com OE de *L. alba* (Simões-Bueno et al., 2024).

O aumento da FV pode estar relacionado a uma agitação dos peixes (Boaventura et al., 2020) como uma resposta a um estresse transitório induzido pela presença do anestésico/sedativo na água (Simões-Bueno et al., 2024). A FV é influenciada pela espécie

e fase de desenvolvimento do peixe, bem como por características do OE, como composição, concentração e tempo de uso, sendo difícil estabelecer um modelo de resposta geral (Roohi & Imanpoor, 2015; Ventura et al., 2020). O aumento da FV indicaria um maior consumo de oxigênio durante o transporte dos peixes. Contudo, isso não aconteceu no corrente ensaio, uma vez que os níveis de oxigênio dissolvido ao final do transporte não diferiu entre os tratamentos.

Por outro lado, o pH da água nas embalagens de todos os peixes transportados foi reduzida. Isto pode ter ocorrido por um acúmulo de CO_2 produzido pelos animais através da respiração, o qual influenciou na acidificação da água de transporte (Luz & Favero, 2024). O tambaqui é uma espécie com boa capacidade de adaptação a variações no pH da água, de maneira que a redução relatada não causa impacto negativo nestes animais (Aride et al., 2007). Na verdade, uma leve redução no pH da água de transporte pode até ser benéfica aos peixes, pois promove uma redução na quantidade de amônia não ionizada (NH_3) e um aumento da amônia ionizada (NH_4^+), o que facilita a excreção de amônia (Baldisserotto, 2017).

O aumento de amônia nas embalagens pós transporte pode ser atribuído ao seu acúmulo ao longo das 6 h. É interessante relatar que o tratamento OEAC-DCB resultou em um menor acúmulo de amônia quando comparado ao grupo OEAC-DCP, sendo este resultado relacionado positivamente ao transporte em uma menor DC (Hohlenwerger et al., 2017; Hong et al., 2019; Lima et al., 2020). Por fim, variações na alcalinidade que ocorreram no tratamento OEAC-DCB podem ser atribuídas a uma ação conjunta do acúmulo de CO_2 e de decomposição da matéria orgânica presentes nas embalagens (Copatti et al., 2024). Assim, este menor nível de alcalinidade pode estar associado a uma menor regurgitação de matéria orgânica por parte dos peixes, o que seria vantajoso aos animais deste tratamento (OEAC-DCB) (Becker et al., 2012; Parodi et al., 2014).

Além da avaliação da qualidade de água, a análise dos parâmetros hematológicos em peixes é uma ferramenta comumente utilizada como um método não-letal de detectar alterações fisiológicas e de diagnosticar doenças (Fazio, 2019). O perfil hematológico pode sofrer alterações rapidamente em função de mudanças na qualidade da água ou em resposta a um evento de estresse, fornecendo informações importantes em relação a capacidade de transporte de oxigênio, potencial imune e estado de bem-estar dos peixes (Tavares-Dias & Moraes, 2006; Fazio, 2019). Dentre as análises hematológicas, a contagem diferencial de leucócitos é uma análise simples e capaz de elucidar acerca do quadro de saúde dos peixes (Witeska et al., 2022). Os linfócitos são a célula de defesa mais abundante dentre os

leucócitos totais, estando relacionados a produção de imunoglobulina e modulação da resposta imune (Davis et al., 2008). Frente a um estímulo estressor, existe uma tendência a ocorrer a diminuição da concentração de linfócitos na corrente sanguínea, acompanhada do aumento no número de heterófilos, células envolvidas no processo de resposta inflamatória (Dinesh et al., 2021; Witeska et al., 2022).

No corrente estudo, o grupo Controle-DCP apresentou as maiores variações em relação aos parâmetros hematológicos avaliados quando comparado ao grupo não transportado. No Controle-DCP houve aumento na quantidade de hemácias, hemoglobina, hematócrito e leucócitos totais, o que pode indicar um aumento do gasto energético em decorrência da resposta de “luta e fuga” induzida pelo estresse de transporte (Witeska et al., 2022). Adicionalmente, foi verificada uma mudança no perfil da contagem diferencial de leucócitos de todos os grupos transportados. Houve uma redução no percentual relativo de heterófilos, e um aumento de linfócitos, sem alterações no número total de leucócitos, exceto no grupo Controle-DCP, no qual houve um aumento. Esta redução na razão entre a concentração de heterófilos e linfócitos é um indicativo de que o estímulo estressor do transporte não teve um grande impacto na resposta imune dos animais (Davis et al., 2008). Vale ressaltar que, apesar de não terem diferenças significativas entre os tratamentos, tal razão foi menor nos tratamentos com OEAC. Portanto, o uso de OEAC, em ambas as DC, promoveu uma maior estabilidade nos parâmetros hematológicos. Por outro lado, os peixes transportados sem OEAC tiveram mais alterações fisiológicas na comparação com os peixes não transportados.

Aliado aos parâmetros hematológicos, a análise dos parâmetros bioquímicos também é de grande relevância para avaliação da saúde de peixes. Sob estresse de transporte, os peixes tendem a gastar mais energia para manter a homeostase, havendo assim um aumento da demanda energética (Teixeira et al., 2017). No corrente estudo, isto deve ter ocorrido nos peixes transportados em DCP (com ou sem OEAC), pois houve uma resposta hiperglicemiante (glicose acima de 103 mg dL^{-1}) nestes animais (Tavares-Dias, 2015; Souza et al., 2021). Esta hiperglicemia poderia ser explicada pela liberação de catecolaminas na corrente sanguínea em decorrência de um estímulo estressor externo (transporte) (Taheri Mirghaied et al., 2018). As catecolaminas promovem o aumento dos níveis de glicose plasmática através do processo de glicogenólise, que em peixes ocorre principalmente no fígado através da quebra do glicogênio hepático, fornecendo energia para atender a maior demanda energética dos animais frente a uma situação de estresse (Wendelaar-Bonga, 1997; Hohlenwerger et al., 2017). Entretanto, o nível do glicogênio hepático dos animais dos grupos Controle-DCP e OEAC-DCP também foi maior em relação aos outros tratamentos,

o que sugere que o aumento da glicose plasmática e do glicogênio hepático são efeitos provenientes dos processos de gliconeogênese e glicogenólise atuando em conjunto, que são respostas secundárias ao estresse em peixes (Souza et al., 2019).

Para lidar com situações de estresse, o principal substrato utilizado como fonte de energia são carboidratos como a glicose e, em seguida, são utilizadas moléculas lipídicas (Javed & Usmani, 2015). Em peixes, a síntese de colesterol ocorre principalmente no fígado, entretanto, no presente estudo não houve variação no colesterol total ou nos triglicérides plasmáticos, apenas um aumento do HDL do Controle-DCB, o que indica a homeostase no funcionamento dos hepatócitos (Chung et al., 2021).

O aumento da atividade das enzimas ALT e AST pode ser relacionado a danos no tecido hepático (Chung et al., 2021) ou a uma hiperatividade hepática (Copatti et al., 2019). O tratamento OEAC-DCB contribuiu para a redução da atividade plasmática e hepática das transaminases, o que pode ser interpretado como uma melhora do estado anabólico do tecido hepático destes animais. Além disso, neste grupo e principalmente no grupo OEAC-DCP houve um aumento nos níveis de proteína total no fígado, o que poderia indicar que este substrato estaria mais disponível para outras funções corporais (Becker et al., 2016). Por fim, a redução dos níveis de albumina plasmática no tratamento Controle-DCB também é um indicativo de redução do metabolismo hepático após o transporte (Javed & Usmani, 2015). Desta forma, nas condições testadas neste estudo, considerando nossos achados para parâmetros bioquímicos plasmáticos e hepáticos, uma melhora no metabolismo dos tambaquis deve ocorrer usando OEAC em DCB, mostrando que mesmo sob um aumento da FV não deve ter ocorrido comprometimento das reservas energéticas dos peixes.

Conclusão

Para indução anestésica de tambaqui, verificou-se que a concentração de 250 μL OEAC L^{-1} foi eficaz em promover anestesia. Na avaliação do uso de 20 μL OEAC L^{-1} como sedativo para o transporte dos peixes, especialmente quando os peixes foram mantidos em DCB (65 g L^{-1}), promoveu uma melhora nos parâmetros hematológicos (hemácias, hemoglobina, hematócrito e leucócitos totais) e bioquímicos (glicose e ALT do plasma e AST e glicogênio hepático), sem causar alterações prejudiciais para a qualidade de água.

Referências

- Aride, P.H.R., Roubach, R., Val, A.L., 2007. Tolerance response of tambaqui *Colossoma macropomum* (Cuvier) to water pH. *Aquaculture Research* 38, 588–594.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2007.01693.x>
- Aydın, B., Barbas, L.A.L., 2020. Sedative and anesthetic properties of essential oils and their active compounds in fish: A review. *Aquaculture* 520.
<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.734999>
- Bahramsoltani, R., Rostamiasrabadi, P., Shahpiri, Z., Marques, A.M., Rahimi, R., Farzaei, M.H., 2018. *Aloysia citrodora* Paláu (Lemon verbena): A review of phytochemistry and pharmacology. *Journal of Ethnopharmacology* 222, 34–51.
<https://doi.org/10.1016/j.jep.2018.04.021>
- Baldisserotto, B., 2017. *Fisiologia de peixes aplicada à piscicultura*. 3ed, Santa Maria, UFMG.
- Bassolé, I.H.N., Lamien-Meda, A., Bayala, B., Obame, L.C., Ilboudo, A.J., Franz, C., Novak, J., Nebié, R.C., Dicko, M.H., 2011. Chemical composition and antimicrobial activity of *Cymbopogon citratus* and *Cymbopogon giganteus* essential oils alone and in combination. *Phytomedicine* 18, 1070–1074.
<https://doi.org/10.1016/j.phymed.2011.05.009>
- Becker, A.G., Parodi, T.V., Heldwein, C.G., Zeppenfeld, C.C., Heinzmann, B.M., Baldisserotto, B., 2012. Transportation of silver catfish, *Rhamdia quelen*, in water with eugenol and the essential oil of *Lippia alba*. *Fish Physiology and Biochemistry* 38, 789–796. <https://doi.org/10.1007/s10695-011-9562-4>
- Becker, A.G., Parodi, T.V., Zeppenfeld, C.C., Salbego, J., Cunha, M.A., Heldwein, C.G., Loro, V.L., Heinzmann, B. M., Baldisserotto, B., 2016. Pre-sedation and transport of *Rhamdia quelen* in water containing essential oil of *Lippia alba*: metabolic and physiological responses. *Fish Physiology and Biochemistry* 42, 73–81.
<https://doi.org/10.1007/s10695-015-0118-x>

Becker, A.J., Fogliarini, C.O., Souza, C.F., Becker, A.G., Mourão, R.H.V., Silva, L.V.F., Baldisserotto, B., 2018. Ventilatory frequency and anesthetic efficacy in silver catfish, *Rhamdia quelen*: a comparative approach between different essential oils. *Revista Brasileira de Zootecnia* 47. <https://doi.org/10.1590/rbz4720170185>

Bidinotto P.M., Souza R.H.S., Moraes G., 1997. Hepatic glycogen in eight tropical freshwater teleost fish: a procedure for field determinants of microsamples. *Boletim Técnico CEPTA Pirassununga* 10, 53–60.

Boaventura, T.P., Souza, C.F., Ferreira, A.L., Favero, G.C., Baldissera, M.D., Heinzmann, B.M., Baldisserotto, B., Luz, R.K., 2020. Essential oil of *Ocimum gratissimum* (Linnaeus, 1753) as anesthetic for *Lophiosilurus alexandri*: Induction, recovery, hematology, biochemistry and oxidative stress. *Aquaculture* 529. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735676>

Brandão, F.R., Farias, C.F.S., Souza, D.C.M., Oliveira, M.I.B., Matos, L.V., Majolo, C., Oliveira, M.R., Chaves, F.C.M., O’Sullivan, F.L.A., Chagas, E.C., 2021. Anesthetic potential of the essential oils of *Aloysia triphylla*, *Lippia sidoides* and *Mentha piperita* for *Colossoma macropomum*. *Aquaculture* 534. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.736275>

Burgess, D.R., Linstrom, P.J., Mallard, W.G., 2016. NIST Chemistry WebBook. Linstrom, P.J.

Chung, S., Ribeiro, K., Teixeira, D.V., Copatti, C.E., 2021. Inclusion of essential oil from ginger in the diet improves physiological parameters of tambaqui juveniles (*Colossoma macropomum*). *Aquaculture* 543. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.736934>

CONCEA, 2018. Diretrizes da Prática de Eutanásia do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal. Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação. Brasília.

Cooke, S.J., Suski, C.D., Ostrand, K.G., Tufts, B.L., Wahl, D.H., 2004. Behavioral and physiological assessment of low concentrations of clove oil anaesthetic for handling and

transporting largemouth bass (*Micropterus salmoides*). *Aquaculture* 239, 509–529.
<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2004.06.028>

Copatti, C.E., Baldisserotto, B., Souza, C.F., Garcia, L., 2019. Protective effect of high hardness in pacu juveniles (*Piaractus mesopotamicus*) under acidic or alkaline pH: Biochemical and haematological variables. *Aquaculture* 502, 250–257.
<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.12.028>

Copatti, C.E., Melo, J.F., Camargo, A.C., 2024. Essential oils in fish farming: anesthesia, nutrition and antimicrobial action. In: Camargo, A.C.S. et al. (Org.). *Piscicultura: Suas Versatilidades na América Latina*. 1 ed. Uruguaiana: Unipampa 1, 86-115.

Costa, C.A.R.D.A., Kohn, D.O., Lima, V.M., Gargano, A.C., Flório, J.C., Costa, M., 2011. The GABAergic system contributes to the anxiolytic-like effect of essential oil from *Cymbopogon citratus* (lemongrass). *Journal of Ethnopharmacology* 137, 828–836.
<https://doi.org/10.1016/j.jep.2011.07.003>

Davis, A.K., Maney, D.L., Maerz, J.C., 2008. The use of leukocyte profiles to measure stress in vertebrates: A review for ecologists. *Functional Ecology* 22, 760–772.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2435.2008.01467.x>

Dinesh, R., Daniel, N., Stephen, J., Kumar, S., 2021. Haematological Parameters as Reliable Stress Indicators in Fish.

Embrapa., 2024. CIAqui - Centro de Inteligência e Mercado em Aquicultura: comércio exterior – exportação 2024. Disponível em:
<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/doc/1161190/1/InfComExPisci-16.pdf>
 Acesso em: 18/07/2024.

Fazio, F., 2019. Fish hematology analysis as an important tool of aquaculture: A review. *Aquaculture* 500, 237–242. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.10.030>

Felix e Silva, A., Copatti, C.E., Oliveira, E.P., Bonfá, H.C., Melo, F.V.S.T., Camargo, A.C. S., Melo, J.F.B., 2020. Effects of whole banana meal inclusion as replacement for

corn meal on digestibility, growth performance, haematological and biochemical variables in practical diets for tambaqui juveniles (*Colossoma macropomum*). Aquaculture Reports 17. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2020.100307>

Friedewald W.T., Levy R.I., Fredrickson D.S., 1972. Estimation of the concentration of low density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. Clinical Chemistry 18, 499–502. <https://doi.org/10.1093/clinchem/18.6.499>

Gomes, L.C., Araujo-Lima, C.A.R.M., Roubach, R., Chippari-Gomes, A.R., Lopes, N., Urbinati, E.C. 2003. Effect of Fish Density During Transportation on Stress and Mortality of Juvenile Tambaqui *Colossoma macropomum*. World Aquaculture, 34, 1. <https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.2003.tb00041.x>

He, R., Lei, B., Su, Y., Wang, A., Cui, K., Shi, X., Chen, X., 2020. Effectiveness of eugenol as an anesthetic for adult spotted sea bass (*Lateolabrax maculatus*). Aquaculture 523. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735180>

Hikasa, Y., Takase, K., Ogasawara, T., Ogasawara, S., 1986. Anesthesia and recovery with tricaine methenesulfonate, eugenol and thiopental sodium in the carp, *Cyprinus carpio*. Japanese Journal of Veterinary Science 48, 341-351. <https://doi.org/10.1292/jvms1939.48.341>

Hohlenwerger, J.C., Copatti, C.E., Sena, A.C., Couto, R.D., Baldisserotto, B., Heinzmann, B.M., Caron, B.O., Schmidt, D., 2016. Could the essential oil of *Lippia alba* provide a readily available and cost-effective anaesthetic for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*)? Marine and Freshwater Behaviour and Physiology 49, 119–126. <https://doi.org/10.1080/10236244.2015.1123869>

Hohlenwerger, J.C., Baldisserotto, B., Couto, R.D., Heinzmann, B.M., Silva, D.T., Caron, B.O., Schmidt, D., Copatti, C.E., 2017. Essential oil of *Lippia alba* in the transport of Nile tilapia. Ciência Rural 47. <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20160040>

Hong, J., Chen, X., Liu, S., Fu, Z., Han, M., Wang, Y., Gu, Z., Ma, Z., 2019. Impact of fish density on water quality and physiological response of golden pompano (*Trachinotus*

ovatus) flingerlings during transportation. *Aquaculture* 507, 260–265.

<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.04.040>

Javed, M., Usmani, N., 2015. Stress response of biomolecules (carbohydrate, protein and lipid profiles) in fish *Channa punctatus* inhabiting river polluted by Thermal Power Plant effluent. *Saudi Journal of Biological Sciences* 22, 237–242.

<https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2014.09.021>

Johnston, G.A.R., Hanrahan, J.R., Chebib, M., Duke, R.K., Mewett, K.N., 2006.

Modulation of Ionotropic GABA Receptors by natural products of plant origin. *Advances in Pharmacology* 54, 285–316. [https://doi.org/10.1016/S1054-3589\(06\)54012-8](https://doi.org/10.1016/S1054-3589(06)54012-8)

Lima, A.F., Oliveira, H.J.B., Pereira, A.S., Sakamoto, S.S., 2020. Effect of density of fingerling and juvenile pirarucu during transportation on water quality and physiological parameters. *Acta Amazônica* 50, 223–231. <https://doi.org/10.1590/1809-4392202000302>

Limma-Netto, J.D., Sena, A.C., Copatti, C.E., 2016. Essential oils of *Ocimum basilicum* and *Cymbopogon flexuosus* in the sedation, anesthesia and recovery of tambacu (*Piaractus mesopotamicus* male x *Colossoma macropomum* Female). *Boletim Do Instituto de Pesca* 42, 727–733. <https://doi.org/10.20950/1678-2305.2016v42n3p727>

Limma-Netto, J.D., Oliveira, R.S.M., Copatti, C.E., 2017. Efficiency of essential oils of *Ocimum basilicum* and *Cymbopogon flexuosus* in the sedation and anaesthesia of *Nile tilapia* juveniles. *Anais Da Academia Brasileira de Ciências* 89, 2971–2974.

<https://doi.org/10.1590/0001-3765201720170001>

Lopes, J.M., Souza, C.F., Schindler, B., Pinheiro, C.G., Salbego, J., Siqueira, J.C., Heinzmann, B.M., Baldisserotto, B., 2018. 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* 16.

<https://doi.org/10.1590/1982-0224-20170152>

Luz, R.K., Favero, G.C., 2024. Use of Salt, Anesthetics, and Stocking Density in Transport of Live Fish: A Review. *Fishes* 9, 286. <https://doi.org/10.3390/fishes9070286>

Nesterkina, M., Kravchenko, I., 2016. Synthesis and pharmacological properties of novel esters based on monocyclic terpenes and GABA. *Pharmaceuticals* 9.

<https://doi.org/10.3390/ph9020032>

Neves, L., Favero, G.C., Beier, S.L., Ferreira, N.S., Palheta, G.D.A., Melo, N.F.A.C., Luz, R. K., 2020. Physiological and metabolic responses in juvenile *Colossoma macropomum* exposed to hypoxia. *Fish Physiology and Biochemistry* 46, 2157–2167.

<https://doi.org/10.1007/s10695-020-00868-8>

Oliveira, C.P.B., Lemos, C.H.P., Felix e Silva, A., Souza, S.A., Albinati, A.C.L., Lima, A. O., Copatti, C.E., 2019. Use of eugenol for the anaesthesia and transportation of freshwater angelfish (*Pterophyllum scalare*). *Aquaculture* 513.

<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734409>

Oliveira, I.C., Oliveira, R.S.M., Lemos, C.H.P., Oliveira, C.P.B., Felix e Silva, A., Lorenzo, V.P., Lima, A.O., Cruz, A.L., Copatti, C.E., 2022. Essential oils from *Cymbopogon citratus* and *Lippia sidoides* in the anesthetic induction and transport of ornamental fish *Pterophyllum scalare*. *Fish Physiology and Biochemistry* 48, 501–519.

<https://doi.org/10.1007/s10695-022-01075-3>

Parodi, T.V., Cunha, M.A., Becker, A.G., Zeppenfeld, C.C., Martins, D.I., Koakoski, G., Barcellos, L.G., Heinzmann, B.M., Baldisserotto, B., 2014. Anesthetic activity of the essential oil of *Aloysia triphylla* and effectiveness in reducing stress during transport of albino and gray strains of silver catfish, *Rhamdia quelen*. *Fish Physiology and Biochemistry* 40, 323–334. <https://doi.org/10.1007/s10695-013-9845-z>

Pramod, P.K., Ramachandran, A., Sajeewan, T.P., Thampy, S., Pai, S.S., 2010. Comparative efficacy of MS-222 and benzocaine as anaesthetics under simulated transport conditions of a tropical ornamental fish *Puntius filamentosus* (Valenciennes). *Aquaculture Research* 41, 309–314. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2009.02333.x>

Roohi, Z., Imanpoor, M.R., 2015. The efficacy of the oils of spearmint and methyl salicylate as new anesthetics and their effect on glucose levels in common carp (*Cyprinus*

carpio L., 1758) juveniles. *Aquaculture* 437, 327–332.

<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2014.12.019>

Sampaio, F.D.F. Freire, C.A., 2016, An overview of stress physiology of fish transport: changes in water quality as a function of transport duration. *Fish and Fisheries* 17, 1055–1072. <https://doi.org/10.1111/faf.12158>

Santos, A.C., Junior, G.B., Zago, D.C., Zeppenfeld, C.C., Silva, D.T., Heinzmann, B.M., Baldisserotto, B., Cunha, M.A., 2017. Anesthesia and anesthetic action mechanism of essential oils of *Aloysia triphylla* and *Cymbopogon flexuosus* in silver catfish (*Rhamdia quelen*). *Veterinary Anaesthesia and Analgesia* 44, 106–113.

<https://doi.org/10.1111/vaa.12386>

Santos, E.L.R., Rezende, F.P., Moron, S.E., 2020. Stress-related physiological and histological responses of tambaqui (*Colossoma macropomum*) to transportation in water with tea tree and clove essential oil anesthetics. *Aquaculture* 523.

<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735164>

Santos, A.C., Bianchini, A.E., Bandeira Junior, G., Garlet, Q.I., Brasil, M.T. B., Heinzmann, B.M., Baldisserotto, B., Caron, B.O., Cunha, M.A., 2022. Essential oil of *Aloysia citriodora* Paláu and citral: sedative and anesthetic efficacy and safety in *Rhamdia quelen* and *Ctenopharyngodon idella*. *Veterinary Anaesthesia and Analgesia* 49, 104–112.

<https://doi.org/10.1016/j.vaa.2021.10.004>

Sena, A.C., Teixeira, R.R., Ferreira, E.L., Heinzmann, B.M., Baldisserotto, B., Caron, B.O., Schmidt, D., Couto, R.D., Copatti, C.E., 2016. Essential oil from *Lippia alba* has anaesthetic activity and is effective in reducing handling and transport stress in tambacu (*Piaractus mesopotamicus* × *Colossoma macropomum*). *Aquaculture* 465, 374–379.

<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.09.033>

Silva, H.N.P., Carvalho, B.C.F., Maia, J.L.D.S., Becker, A.G., Baldisserotto, B., Heinzmann, B.M., Mourão, R.H.V., Silva, L.V.F., 2019. Anesthetic potential of the essential oils of *Lippia alba* and *Lippia origanoides* in Tambaqui juveniles. *Ciência Rural* 49. <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20181059>

Silva, R.C., Silva, L.R., França, I.F., Lopes, J.M., Pantoja, B.T.S., Pereira, M.M., Ramos, L. R.V., 2023. Anesthetic effect and acute toxicity of *Citrus sinensis* essential oil in betta. Boletim Do Instituto de Pesca 49. <https://doi.org/10.20950/1678-2305/bip.2023.49.e816>

Simões-Bueno, L.N., Copatti, C.E., Gomes, L.C., Val, A.L., Amanajás, R.D., Caron, B.O., Heinzmann, B.M., Baldisserotto, B., 2024. Linalool chemotype essential oil from *Lippia alba* in the anesthesia of fat snook (*Centropomus parallelus*): ventilatory rate, biochemical, antioxidant, and oxidative status parameters. Neotropical Ichthyology 22. <https://doi.org/10.1590/1982-0224-2023-0114>

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 218. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(02\)00302-2](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(02)00302-2)

Song, Y., Seo, S., Lamichhane, S., Seo, J., Hong, J.T., Cha, H.J., Yun, J., 2021. Limonene has anti-anxiety activity via adenosine A2A receptor-mediated regulation of dopaminergic and GABAergic neuronal function in the striatum. Phytomedicine 83. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2021.153474>

Souza, C., Baldissera, M.D., Baldisserotto, B., Heinzmann, B.M., Martos-Sitcha, J.A., Mancera, J.M., 2019. Essential oils as stress-reducing agents for fish aquaculture: A review. Frontiers in Physiology 10. <https://doi.org/10.3389/fphys.2019.00785>

Souza, A.M., Copatti, C.E., Campeche, D.F.B., Melo, F.V.S.T., Melo, J.F.B., 2021. Glucose tolerance in six fish species reared in Brazil: Differences between carnivorous and omnivorous. Anais da Academia Brasileira de Ciências 93. <https://doi.org/10.1590/0001-3765202120201541>

Stevens, C.H., Croft, D.P., Paull, G.C., Tyler, C.R., 2017. Stress and welfare in ornamental fishes: what can be learned from aquaculture? Journal of Fish Biology 91, 409–428. <https://doi.org/10.1111/jfb.13377>

Taheri Mirghaed, A., Yasari, M., Mirzargar, S.S., Hoseini, S.M., 2018. Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) anesthesia with myrcene: efficacy and physiological responses in comparison with eugenol. *Fish Physiology and Biochemistry* 44, 919–926.
<https://doi.org/10.1007/s10695-018-0481-5>

Tarkhani, R., Imani, A., Jamali, H., Farsani, H. G., 2017. Anaesthetic efficacy of eugenol on various size classes of angelfish (*Pterophyllum scalare* Schultze, 1823). *Aquaculture Research* 48, 5263–5270. <https://doi.org/10.1111/are.13339>

Tavares-Dias, M., Moraes, F.R., 2006. Hematological parameters for the *Brycon orbignyanus* Valenciennes, 1850 (Osteichthyes: Characidae) intensively bred. *Hidrobiológica* 16, 271-274.

Tavares-Dias, M., 2015. Parâmetros sanguíneos de referência para espécies de peixes cultivados. In: Tavares-Dias, M., Mariano, W.S. (Org.). *Aquicultura no Brasil: novas perspectivas*. São Carlos, Editora Pedro & João.

Teixeira, R.R., Souza, R.C., Sena, A.C., Baldisserotto, B., Heinzmann, B.M., Couto, R.D., Copatti, C.E., 2017. Essential oil of *Aloysia triphylla* in *Nile tilapia*: anaesthesia, stress parameters and sensory evaluation of fillets. *Aquaculture Research* 48, 3383–3392.
<https://doi.org/10.1111/are.13165>

Teixeira, R.R., de Souza, R.C., Sena, A.C., Baldisserotto, B., Heinzmann, B.M., Copatti, C. E., 2018. Essential oil of *Aloysia triphylla* is effective in *Nile tilapia* transport. *Boletim do Instituto de Pesca* 44, 17–24. <https://doi.org/10.20950/1678-2305.2018.263>

Toni, C., Becker, A.G., Simões, L.N., Pinheiro, C.G., Lima Silva, L., Heinzmann, B.M., Caron, B.O., Baldisserotto, B., 2014. Fish anesthesia: Effects of the essential oils of *Hesperozygis ringens* and *Lippia alba* on the biochemistry and physiology of silver catfish (*Rhamdia quelen*). *Fish Physiology and Biochemistry* 40, 701–714.
<https://doi.org/10.1007/s10695-013-9877-4>

Vale, T.G., Matos, F.J.A., Lima, T.C.M., Viana, G.S.B., 1999. Behavioral effects of essential oils from *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown chemotypes. Journal of Ethnopharmacology 167. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(98\)00215-3](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(98)00215-3)

Ventura, A.S., Corrêa Filho, R.A.C., Teodoro, G.C., Laice, L.M., Barbosa, P.T.L., Stringhetta, G.R., Jerônimo, G.T., Povh, J.A., 2020. Essential oil of *Ocimum basilicum* and eugenol as sedatives for Nile tilapia. Journal of Agricultural Studies 8, 657-665. <https://doi.org/10.5296/jas.v8i2.17075>

Valladão, G.M.R., Gallani, S.U., Pilarski, F., 2018. South American fish for continental aquaculture. Reviews in Aquaculture 10, 351–369. <https://doi.org/10.1111/raq.12164>

Wendelaar Bonga, S.E., 1997. The Stress Response in Fish. Physiological reviews 77. <https://doi.org/10.1152/physrev.1997.77.3.591>

Witeska, M., Kondera, E., Ługowska, K., Bojarski, B., 2022. Hematological methods in fish – Not only for beginners. Aquaculture 547. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.737498>

Zeppenfeld, C.C., Toni, C., Becker, A.G., Miron, D.S., Parodi, T.V., Heinzmann, B.M., Barcellos, L.J.G., Koakoski, G., Rosa, J.G.S., Loro, V.L., Cunha, M.A. Baldisserotto, B. 2014. Physiological and biochemical responses of silver catfish, *Rhamdia quelen*, after transport in water with essential oil of *Aloysia triphylla* (L'Herit) Britton. Aquaculture, 418–419, 101–107. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.10.013>

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARAÚJO-LIMA, C. A. R. M., & GOULDING, M. **So fruitful a fish: Ecology, conservation, and aquaculture of the Amazon's tambaqui**. Columbia University Press, 1998.
- AYDIN, B., & BARBAS, L. A. L. Sedative and anesthetic properties of essential oils and their active compounds in fish: A review. **Aquaculture** (Vol. 520). Elsevier B.V, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.734999>
- BALAMURUGAN, J., AJITH KUMAR, T. T., PRAKASH, S., MEENAKUMARI, B., BALASUNDARAM, C., & HARIKRISHNAN, R. Clove extract: A potential source for stress free transport of fish. **Aquaculture**, 454, 171–175, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.12.020>
- BAKKALI, F., AVERBECK, S., AVERBECK, D., & IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils – A review. **Food and Chemical Toxicology**, 46(2), 446–475, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2007.09.106>
- BECKER, A. G., PARODI, T. V., ZEPPENFELD, C. C., SALBEGO, J., CUNHA, M. A., HELDWEIN, C. G., LORO, V. L., HEINZMANN, B. M., & BALDISSEROTTO, B. Pre-sedation and transport of *Rhamdia quelen* in water containing essential oil of *Lippia alba*: metabolic and physiological responses. **Fish Physiology and Biochemistry**, 42(1), 73–81, 2016. <https://doi.org/10.1007/s10695-015-0118-x>
- BRAUM, E., & JUNK, W. J. Morphological adaptation of two Amazonian characoids (Pisces) for surviving in oxygen deficient waters. **International Revue der Gesamten Hydrobiologie**, 67, 869–886, 1982.
- BROWN, L. A. Anaesthesia for fish. **Vietfish**, 8, 68-70, 2011.
- CARTER, K. M., WOODLEY, C. M., & BROWN, R. S. A review of tricaine methanesulfonate for anesthesia of fish. **Reviews in Fish Biology and Fisheries**, 21(1), 51–59, 2011. <https://doi.org/10.1007/s11160-010-9188-0>

COOKE, S. J., SUSKI, C. D., OSTRAND, K. G., TUFTS, B. L., & WAHL, D. H. Behavioral and physiological assessment of low concentrations of clove oil anaesthetic for handling and transporting largemouth bass (*Micropterus salmoides*). **Aquaculture**, 239(1–4), 509–529, 2004. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2004.06.028>

CUNHA, J. A., SCHEEREN, C., SALBEGO, J., GRESSLER, L. T., MADALUZ, L. M., BANDCIRA JUNIOR, G., BIANCHINI, A. E., PINHEIRO, C. G., BORDIGNON, S. A. L., HEINZMANN, B. M., & BALDISSEROTTO, B. Essential oils of *Cunila galioides* and *Origanum majorana* as anesthetics for *Rhamdia quelen*: Efficacy and effects on ventilation and ionoregulation. **Neotropical Ichthyology**, 15(1), 2017. <https://doi.org/10.1590/1982-0224-20160076>

EMBRAPA. CIAqui - Centro de Inteligência e Mercado em Aquicultura: comércio exterior – exportação 2024. 2024. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/doc/1161190/1/InfComExpPisci-16.pdf> Acesso em: 18/07/2024.

FELIX E SILVA, A., COPATTI, C. E., DC OLIVEIRA, E. P., BONFÁ, H. C., MELO, F. V. S. T. DC, CAMARGO, A. C. DC S., & MELO, J. F. B. Effects of whole banana meal inclusion as replacement for corn meal on digestibility, growth performance, haematological and biochemical variables in practical diets for tambaqui juveniles (*Colossoma macropomum*). **Aquaculture Reports**, 17, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2020.100307>

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. Approved aquaculture drugs. Disponível em: <https://www.fda.gov/animal-veterinary/aquaculture/approved-aquaculture-drugs>. Acesso em: 25/08/2024.

GHOLIPOURKANANI, H., & AHADIZADCH, S. Use of propofol as an anesthetic and its efficacy on some hematological values of ornamental fish *Carassius auratus*. **SpringerPlus**, 2(1), 1–5, 2013. <https://doi.org/10.1186/2193-1801-2-76>

GOULDING, M., & CARVALHO, M. L. Life history and management of the tambaqui (*Colossoma macropomum*, Characidae): An important amazonian food fish. **Revista Brasileira de Zoologia**, 1(2), 107–133, 1982. <https://doi.org/10.1590/S0101-81751982000200001>

HANIF, M. A., NISAR, S., KHAN, G. S., MUSHTAQ, Z., & ZUBAIR, M. Essential Oils. **Essential Oil Research** (pp. 3–17). Springer International Publishing, 2019. https://doi.org/10.1007/978-3-030-16546-8_1

HE, R., LEI, B., SU, Y., WANG, A., CUI, K., SHI, X., & CHEN, X. Effectiveness of eugenol as an anesthetic for adult spotted sea bass (*Lateolabrax maculatus*). **Aquaculture**, 523, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735180>

HOSEINI, S. M., TAHERI MIRGHAED, A., & YOUSEFI, M. Application of herbal anaesthetics in aquaculture. **Reviews in Aquaculture** (Vol. 11, Issue 3, pp. 550–564), 2019. Wiley-Blackwell. <https://doi.org/10.1111/raq.12245>

HOSEINI, S. M., RAJABIESTERABADI, H., & TARKHANI, R. Anaesthetic efficacy of eugenol on iridescent shark, *Pangasius hypophthalmus* (Sauvage, 1878) in different size classes. **Aquaculture Research**, 46(2), 405–412., 2015. <https://doi.org/10.1111/are.12188>

HOSKONEN, P., & PIRHONEN, J. Temperature effects on anaesthesia with clove oil in six temperate-zone fishes. **Journal of Fish Biology**, 64(4), 1136–1142, 2004. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2004.00359.x>

JAVAHERY, S., NEKOUBIN, H., & MORADLU, A. H. Effect of anaesthesia with clove oil in fish (review). **Fish Physiology and Biochemistry** (Vol. 38, Issue 6, pp. 1545–1552), 2012. Kluwer Academic Publishers. <https://doi.org/10.1007/s10695-012-9682-5>

LUZ, R. K., & FAVERO, G. C. Use of Salt, Anesthetics, and Stocking Density in Transport of Live Fish: A Review. **Fishes**, 9(7), 286, 2024. <https://doi.org/10.3390/fishes9070286>

MARKING, L.L. & MEYER, F.P. Are better anesthetics needed in fisheries? **Fisheries**, 10(6), 2-5, 1985. [https://doi.org/10.1577/1548-8446\(1985\)010<0002:ABANIF>2.0.CO;2](https://doi.org/10.1577/1548-8446(1985)010<0002:ABANIF>2.0.CO;2)

MAZANDARANI, M., HOSEINI, S. M., & DCHGHANI GHOMSHANI, M. Effects of linalool on physiological responses of *Cyprinus carpio* (Linnaeus, 1758) and water physico-chemical parameters during transportation. **Aquaculture Research**, 48(12), 5775–5781, 2017. <https://doi.org/10.1111/are.13400>

NEVES, L., FAVERO, G. C., BEIER, S. L., FERREIRA, N. S., PALHETA, G. D. A., DC MELO, N. F. A. C., & LUZ, R. K. Physiological and metabolic responses in juvenile *Colossoma macropomum* exposed to hypoxia. **Fish Physiology and Biochemistry**, 46(6), 2157–2167, 2020. <https://doi.org/10.1007/s10695-020-00868-8>

ODA, A.; BAILEY, K.M.; LEWBART, G.A.; GRIFFITH, E.H.; POSNER, L.P. Physiologic and biochemical assessments of koi (*Cyprinus carpio*) following immersion in propofol. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, 245(11), 1286-1291, 2014.

OLIVEIRA, I. C., OLIVEIRA, R. S. M., LEMOS, C. H. DA P., DC OLIVEIRA, C. P. B., FELIX E SILVA, A., LORENZO, V. P., LIMA, A. O., DA CRUZ, A. L., & COPATTI, C. E. Essential oils from *Cymbopogon citratus* and *Lippia sidoides* in the anesthetic induction and transport of ornamental fish *Pterophyllum scalare*. **Fish Physiology and Biochemistry**, 48(3), 501–519, 2022. <https://doi.org/10.1007/s10695-022-01075-3>

OUYANG, M. Y., WEN, B., MA, H. C., CHEN, C., GAO, J. Z., ZHANG, Y., & CHEN, Z. Z. Minimally invasive evaluation of the anaesthetic efficacy of MS-222 for ornamental discus fish using skin mucus biomarkers. **Aquaculture Research**, 51(7), 2926–2935, 2020. <https://doi.org/10.1111/are.14631>

PRAMOD, P. K., SAJEEVAN, T. P., RAMACHANDRAN, A., THAMPY, S., & PAI, S. S. Effects of Two Anesthetics on Water Quality during Simulated Transport of a Tropical Ornamental Fish, the Indian tiger barb *Puntius filamentosus*. **North American Journal of Aquaculture**, 72(4), 290–297, 2010a. <https://doi.org/10.1577/a09-063.1>

PRAMOD, P. K., RAMACHANDRAN, A., SAJEEVAN, T. P., THAMPY, S., & PAI, S. S. Comparative efficacy of MS-222 and benzocaine as anaesthetics under simulated transport

conditions of a tropical ornamental fish *Puntius filamentosus* (Valenciennes). **Aquaculture Research**, 41(2), 309–314, 2010b. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2009.02333.x>

PRIBORSKY, J., & VELISEK, J. A Review of Three Commonly Used Fish Anesthetics. **Reviews in Fisheries Science and Aquaculture**, Vol. 26, Issue 4, pp. 417–442, 2018. <https://doi.org/10.1080/23308249.2018.1442812>

PURBOSARI, N., WARSIKI, E., SYAMSU, K., & SANTOSO, J. Natural versus synthetic anesthetic for transport of live fish: A review. **Aquaculture and Fisheries**, Vol. 4, Issue 4, pp. 129–133, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.aaf.2019.03.002>

SAAD, N. Y., MULLER, C. D., & LOBSTEIN, A. Major bioactivities and mechanism of action of essential oils and their components. **Flavour and Fragrance Journal**, Vol. 28, Issue 5, pp. 269–279, 2013. <https://doi.org/10.1002/ffj.3165>

SAMPAIO, F.D.F. AND FREIRE, C.A. An overview of stress physiology of fish transport: changes in water quality as a function of transport duration. **Fish Fish**, 17: 1055-1072, 2016. <https://doi.org/10.1111/faf.12158>

SANTOS, G. M., FERREIRA, E. J. G., & ZUANON, J. Peixes comerciais de Manaus. Pro-Varzea, IBAMA/AM, 2006.

SANTOS, E.S., SILVA, T.G., FREITAS, R.M. Diferentes concentrações de eugenol na anestesia de Molinésia *Mollienesia* sp. **Revista Brasileira de Engenharia de Pesca**, 9(2): 10-18, 2016. <https://doi.org/10.18817/repesca.v5i3.323>

SANTOS, E. L. R., REZENDC, F. P., & MORON, S. E. Stress-related physiological and histological responses of tambaqui (*Colossoma macropomum*) to transportation in water with tea tree and clove essential oil anesthetics. **Aquaculture**, 523, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735164>

SILVA, H. N. P., SOUSA, E. M. DC O., MAIA, J. L. DOS S., PINHEIRO, M. T. L., LAMEIRÃO, S. V. DC O. C., MOURÃO, R. H. V., MAIA, J. G. S., BALDISSEROTTO, B., & DA SILVA, L. V. F. *Lippia alba* (Verbenaceae) hydrolate as sedative of tambaqui

(*Colossoma macropomum*) juveniles in simulated transport conditions. **Aquaculture Research**, 49(1), 128–134, 2018. <https://doi.org/10.1111/are.13441>

SIMÕES-BUENO, L. N., COPATTI, C. E., GOMES, L. C., VAL, A. L., AMANAJÁS, R. D., CARON, B. O., HEINZMANN, B. M., & BALDISSEROTTO, B. Linalool chemotype essential oil from *Lippia alba* in the anesthesia of fat snook (*Centropomus parallelus*): ventilatory rate, biochemical, antioxidant, and oxidative status parameters. **Neotropical Ichthyology**, 22(1), 2024. <https://doi.org/10.1590/1982-0224-2023-0114>

SOUZA, C., BALDISSERA, M. D., BIANCHINI, A. E., DA SILVA, E. G., MOURÃO, R. H. V., DA SILVA, L. V. F., SCHMIDT, D., HEINZMANN, B. M., & BALDISSEROTTO, B. Citral and linalool chemotypes of *Lippia alba* essential oil as anesthetics for fish: a detailed physiological analysis of side effects during anesthetic recovery in silver catfish (*Rhamdia quelen*). **Fish Physiology and Biochemistry**, 44(1), 21–34, 2018. <https://doi.org/10.1007/s10695-017-0410-z>

STEVENS, C. H., CROFT, D. P., PAULL, G. C., & TYLER, C. R. Stress and welfare in ornamental fishes: what can be learned from aquaculture? **Journal of Fish Biology**, Vol. 91, Issue 2, pp. 409–428, 2017. Blackwell Publishing Ltd. <https://doi.org/10.1111/jfb.13377>

TAHERI MIRGHAED, A., GHELICHPOUR, M., & HOSEINI, S. M. Myrcene and linalool as new anesthetic and sedative agents in common carp, *Cyprinus carpio* - Comparison with eugenol. **Aquaculture**, 464, 165–170, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.06.028>

TAHERI MIRGHAED, A., GHELICHPOUR, M., ZARGARI, A., & YOUSEFI, M. Anaesthetic efficacy and biochemical effects of 1,8-cineole in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum, 1792). **Aquaculture Research**, 49(6), 2156–2165, 2018. <https://doi.org/10.1111/are.13671>

TORGERSEN, T. Ornamental fish and aquaria. In: Fernö, A., Pavlidis, A., van de Vis, J. W., & Kristiansen, T. S. (Eds.). **Animal Welfare**. Springer, (The Welfare of Fish; vol. 20). 363-374, 2020. <https://doi.org/10.1007/978-3-030-41675-1>

TUREK, C., & STINTZING, F. C. Stability of essential oils: A review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, Vol. 12, Issue 1, pp. 40–53, 2013.
<https://doi.org/10.1111/1541-4337.12006>

VAL, A. L., & OLIVEIRA, A. M. *Colossoma macropomum*—A tropical fish model for biology and aquaculture. **Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological and Integrative Physiology**, Vol. 335, Issues 9–10, pp. 761–770, 2021.
<https://doi.org/10.1002/jez.2536>

VALLADÃO, G. M. R., GALLANI, S. U., & PILARSKI, F. South American fish for continental aquaculture. **Reviews in Aquaculture**, Vol. 10, Issue 2, pp. 351–369, 2018
<https://doi.org/10.1111/raq.12164>

VANDERZWALMEN, M., EDMONDS, E., CAREY, P., SNELLGROVE, D., & SLOMAN, K. A. Effect of a water conditioner on ornamental fish behaviour during commercial transport. **Aquaculture**, 514, 2020.
<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734486>

WILDGOOSE, W.H. Fish Surgery: An overview. **Fish Veterinary Journal**, 5, 22–36, 2000.