

UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA - UFBA
PROGRAMA DE MESTRADO EM ZOOTECNIA

**ÓLEOS ESSENCIAIS DE *Cymbopogon citratus* E *Lippia sidoides* NA
INDUÇÃO ANESTÉSICA E NO TRANSPORTE DE ACARÁ-
BANDEIRA (*Pterophyllum scalare*)**

IARA CRUZ DE OLIVEIRA

SALVADOR, BAHIA

2021



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA - UFBA PROGRAMA DE
MESTRADO EM ZOOTECNIA**

**ÓLEOS ESSENCIAIS DE *Cymbopogon citratus* E *Lippia sidoides* NA
INDUÇÃO ANESTÉSICA E NO TRANSPORTE DE ACARÁ-
BANDEIRA (*Pterophyllum scalare*)**

IARA CRUZ DE OLIVEIRA

Salvador, Bahia

2021

IARA CRUZ DE OLIVEIRA

**ÓLEOS ESSENCIAIS DE *Cymbopogon citratus* E *Lippia sidoides* NA
INDUÇÃO ANESTÉSICA E NO TRANSPORTE DE ACARÁ-
BANDEIRA (*Pterophyllum scalare*)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, da Universidade Federal da Bahia como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Zootecnia.

Área de Concentração: Produção de Animal

Orientador: Prof. Dr. Carlos Eduardo Copatti

Co-orientador: Prof. Dr. André Luis da Cruz

Salvador, Bahia

2021

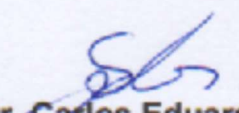
**“ÓLEOS ESSENCIAIS DE *Cymbopogon citratus* E *Lippia sidoides* NA
INDUÇÃO ANESTÉSICA E NO TRANSPORTE DE ACARÁ-BANDEIRA
(*Pterophyllum calare*)”**

Iara Cruz de Oliveira

**Dissertação defendida e aprovada para obtenção do grau de
Mestre em Zootecnia**

Salvador, 19 de julho de 2021

Comissão examinadora:


Dr. Carlos Eduardo Copatti

UFBA

Orientador / Presidente

RODRIGO FORTES

DA

SILVA:03368180681

Dr. Rodrigo Fortes da Silva

UFBA

Bernardo

Baldisserotto

Dr. Bernardo Baldisserotto

UFSM

Assinado de forma digital por
RODRIGO FORTES DA
SILVA:03368180681
Dados: 2021.08.16 14:47:40

Assinado de forma digital por
Bernardo Baldisserotto
Dados: 2021.08.16 10:30:45
-03'00'

Oliveira, Iara Cruz de.

Óleos essenciais de *Cymbopogon citratus* e *Lippia sidoides* na indução anestésica e no transporte de acará-bandeira (*Pterophyllum scalare*) / Iara Cruz de Oliveira. - 2021.
67 f.: il.

Orientador: Prof. Dr. Carlos Eduardo Copatti.

Coorientador: Prof. Dr. André Luis da Cruz.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal da Bahia, Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia, Salvador, 2021.

1. Peixes ornamentais. 2. Peixes ornamentais - Transporte. 3. Essências e óleos essenciais - Uso terapêutico. 4. Anestésicos - Efeito fisiológico. I. Copatti, Carlos Eduardo. II. Universidade Federal da Bahia. Escola de Medicina veterinária e Zootecnia. III. Título.

CDD - 597
CDU - 597

“A ciência humana de maneira nenhuma nega a existência de Deus. Quando considero quantas e quão maravilhosas coisas o homem compreende, pesquisa e consegue realizar, então reconheço claramente que o espírito humano é obra de Deus, sendo ela a mais notável”.

Galileu Galilei

Dedico esse trabalho a minha família, amigos e aqueles que acreditaram em mim e me incentivaram a continuar, Carlos Henrique e Alberto Lima.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por permitir e colocar pessoas maravilhosas em meu caminho que ajudaram tornar meus sonhos reais. Aos meus pais, Izel e Marilene, por ser minha força ao longo da vida. As irmãs, Marluce, Irani e Cida, por acreditarem e entenderem meus momentos de estresse. Ao pai do coração, Prof. Dr. Alberto Lima, e irmão de alma Carlos Henrique, que tem sido componente importante na construção da minha vida acadêmica. Ao orientador, Prof. Dr. Carlos Eduardo Copatti, por aceitar ser meu orientador, pela paciência, disponibilidade e pelos ensinamentos ao longo do mestrado. Ao Prof. Dr. André Luís da Cruz, por me acolher em seu laboratório, disponibilizar seu tempo e compartilhar seu conhecimento comigo. A Yasmin, Raisal e em especial a Helena, pelo apoio. Ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Federal da Bahia. A FAPESB - Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia, pela concessão da bolsa, e tornou possível o desenvolvimento do meu trabalho em um momento tão difícil. Aos companheiros do laboratório, Crislaine, Rebeca e Altiery, pela ajuda na realização dos experimentos.

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 - Qualidade da água antes e após o transporte (8 h) de juvenis II de acará-bandeira (*Pterophyllum scalare*) expostos a diferentes concentrações dos óleos essenciais de *Lippia sidoides* (OELS) e *Cymbopogon citratus* (OECC). 31
- Tabela 2 - Densidade volumétrica (Vv, %) das brânquias de juvenis II de acará-bandeira (*Pterophyllum scalare*) expostos a diferentes concentrações dos óleos essenciais de *Lippia sidoides* (OELS) e *Cymbopogon citratus* (OECC) antes e após o transporte (8 h). 34
- Tabela 3 - Índice de alteração histopatológica (%) em brânquias de juvenis II de acará-bandeira (*Pterophyllum scalare*) expostos a diferentes concentrações dos óleos essenciais de *Lippia sidoides* (OELS) e *Cymbopogon citratus* (OECC) antes e após o transporte (8 h). 35
- Tabela 4. Densidade volumétrica (%) das lesões nas brânquias de juvenis II de acará-bandeira (*Pterophyllum scalare*) exposto a diferentes concentrações dos óleos essenciais de *Lippia sidoides* (OELS) e *Cymbopogon citratus* (OECC) antes e após o transporte (8 h). 37
- Tabela 5 - Frequência ventilatória em juvenis II de acará bandeira (*Pterophyllum scalare*) expostos a diferentes concentrações dos óleos essenciais de *Lippia sidoides* (OELS) e *Cymbopogon citratus* (OECC) em diferentes tempos. 39

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Tempos de sedação e anestesia para juvenis I (A e B, respectivamente) e II (C e D, respectivamente) de acará-bandeira (*Pterophyllum scalare*) em diferentes concentrações de óleo essencial de *Lippia sidoides* (OELS) (n = 8 peixes por tratamento). 29

Figura 2 - Tempos de sedação e anestesia para juvenis I (A e B, respectivamente) e II (C e D, respectivamente) de acará-bandeira (*Pterophyllum scalare*) em diferentes concentrações de óleo essencial de *Cymbopogon citratus* (OECC) (n = 8 peixes por tratamento). 30

Figura 3 - Efeito dos óleos essenciais de *Lippia sidoides* (OELS) e *Cymbopogon citratus* (OECC) para glicose sanguínea (A) e glicogênio muscular (B) antes e após o transporte (8 h) em juvenis II de acará-bandeira (*Pterophyllum scalare*). 33

Figura 4 - Seções histológicas de tecido branquial de juvenis II de acará-bandeira (*Pterophyllum scalare*) (n = 8 peixes por tratamento) antes (A) e após o transporte (8 h) sem adição de óleo essencial (B) ou com adição de 10 e 15 mg L⁻¹ de óleo essencial de *Lippia sidoides* (C e D, respectivamente) e 10 e 15 mg L⁻¹ de óleo essencial de *Cymbopogon citratus* (E e F, respectivamente). Brânquias coradas com hematoxilina eosina, com objetiva de 40 X. Barra = 100 µm. * = lamela primária, SL= lamela secundária, EF = epitélio do filamento. E: peixes transportados com 10 mg L⁻¹ de OECC mostrando hiperplasia (estrela). F: peixes transportados com 15 mg L⁻¹ de OECC mostrando encurtamento da lamela secundária (seta larga) e aneurisma (losango). 36

LISTA DE SIGLAS

AN – Aneurisma
 BA – Bahia
 cm – centímetro
 CaCO₃ – Carbonato de cálcio
 CO₂ – Dióxido de carbono
 Cl – Cloro
 °C – Grau Celsius
 CG/EM - Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas
 DE - Deslocamento do epitélio
 ED – Edema
 EUA – Estados Unidos da América
 EF – Epitélio do filamento
 Et al – E outros
 FAO - Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura
 FI – Fibrose
 FL – Filamento da lamela
 FSL - Fusão das lamelas secundárias
 FV – Frequência ventilatória
 GABA_A - Ácido gama-aminobutírico
 GH – Dureza total da água
 H – Hora
 HE – Hemorragia
 HI – Hiperplasia
 IF – Instituto Federal
 L – Litro
 µL L⁻¹ – Microlitro por litro
 mg L⁻¹ – Miligrama por litro
 mg – Miligrama
 min - Minutos
 mL – Mililitro
 N – Número
 NE – Necrose
 nm – Nanômetro
 N-NO₂ – Nitrito
 N-NH₃ – Amônia
 O₂ – Oxigênio
 OD – Oxigênio dissolvido
 OECC – Óleo essencial de *Cymbopogon citratus*
 OELS – Óleo essencial de *Lippia sidoides*
 PB – Paraíba
 PInc – Proliferação de ionócitos
 PCM – Proliferação de células da mucosa
 PE – Pernambuco
 pH – Potencial hidrogeniônico
 PT – Número de pontos do sistema testado
 PP – Componente tecidual a ser considerado onde *p* é o número de pontos associados a *P*.

SECEX – Secretária de comercio exterior
SP – São Paulo
TB – Tecido branquial
V - Volume

SUMÁRIO

Óleos essenciais de *Cymbopogon citratus* e *Lippia sidoides* na indução anestésica e no transporte de acará-bandeira (*Pterophyllum scalare*)

PÁGINAS

RESUMO.....	13
ABSTRACT.....	13
INTRODUÇÃO.....	15
REVISÃO DE LITERATURA.....	17
Comércio de peixes ornamentais.....	17
Acará-bandeira (<i>Pterophyllumscalare</i>).....	18
Transporte de peixes ornamentais.....	19
Anestesia em peixes.....	19
Óleo essencial de <i>Lippia sidoides</i>	21
Óleo essencial de <i>Cymbopogon citratus</i>	21
MATERIAL E MÉTODOS.....	22
Óleo essencial.....	22
Local e animais.....	23
Indução e recuperação anestésica.....	24
Procedimento de transporte.....	24
Determinações bioquímicas.....	25
Análises branquiais.....	26
Frequência ventilatória.....	27
Análise estatística.....	28
RESULTADOS.....	28
Indução anestésica.....	28
Transporte de juvenis II.....	31
Qualidade de água.....	31
Análises bioquímicas.....	32
Análises branquiais.....	34

Frequência ventilatória.....	38
DISCUSSÃO.....	39
Indução e anestésia.....	39
Transporte.....	42
CONCLUSÃO.....	46
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	46
REFERÊNCIAS.....	47
ANEXOS.....	65

Óleos essenciais de *Cymbopogon citratus* e *Lippia sidoides* na indução anestésica e no transporte de acará-bandeira (*Pterophyllum scalare*)

RESUMO

O objetivo deste estudo foi verificar os efeitos dos óleos essenciais de *Lippia sidoides* (OELS) e *Cymbopogon citratus* (OECC) na indução e na recuperação anestésica de acará-bandeira, bem como sua viabilidade como sedativo durante o transporte. Juvenis de acará-bandeira I (0,82 g) e II (2,4 g) foram expostos a diferentes concentrações de OELS e OECC: 0, 10, 25, 50, 75, 100, 150, 200 e 250 mg L⁻¹. Para juvenis II, também foi avaliada frequência ventilatória (FV) e transporte por 8 h com 0, 10 e 15 mg L⁻¹ de cada óleo essencial. A concentração mínima de ambos os óleos essenciais capaz de causar sedação foi de 10 e 25 mg L⁻¹ para juvenis I e II, respectivamente. Os menores tempos de anestesia de ambos os óleos essenciais foram obtidos usando as concentrações 200 e 250 mg L⁻¹ para juvenis I e II, respectivamente. Os níveis de glicose foram superiores nos animais transportados com de OELS e OECC, os níveis de glicogênio hepático foram menores nos animais transportados com adição dos óleos essenciais. Juvenis II sedados com OELS apresentaram FV inferior aos demais tratamentos. Para os peixes transportados, o volume de tecido branquial e epitélio de filamento foi menor nos peixes dos grupos controle e 15 mg L⁻¹ de OELS. Para lamela secundária, os menores valores ocorreram nos peixes do tratamento 10 mg L⁻¹ de OELS. Em geral, peixes transportados com 10 mg L⁻¹ de OELS apresentaram menos alterações branquiais que os demais peixes transportados. Quando avaliado o tipo de lesão, as maiores alterações ocorreram para os tratamentos 10 e 15 mg L⁻¹ de OECC. Em conclusão, os OELS e OECC são eficientes para manejos rápidos em concentrações de 200 e 250 mg L⁻¹ para juvenis I e II, respectivamente. Para transporte por até 8 h de juvenis II, pode ser usado 10 mg L⁻¹ de OELS, pois apesar desta concentração ter elevado a glicose sanguínea, ela diminuiu a FV, não afetou a qualidade da água e não provocou danos irreversíveis ao tecido branquial.

Palavras-chave: anestesia, frequência ventilatória, análise hematológica, histopatologia, sedação.

Essential oils from *Cymbopogon citratus* and *Lippia sidoides* in the anesthetic induction and transport of freshwater angelfish (*Pterophyllum scalare*)

ABSTRACT

The aim of this study was to verify the effects of essential oils from *Lippia sidoides* (EOLS) and *Cymbopogon citratus* (EOCC) on the anesthetic induction and recovery of freshwater angelfish, as well as their viability as a sedative during transport. Freshwater angelfish juveniles I (0.82 g) and II (2.40 g) were exposed to different concentrations of EOLS and EOCC: 0, 10, 25, 50, 75, 100, 150, 200 and 250 mg L⁻¹. Ventilatory frequency (VF) and transport for 8 h with 0, 10 and 15 mg L⁻¹ of each essential oil were also evaluated in juveniles II. The minimum concentration of both essential oils capable of causing sedation was 10 and 25 mg L⁻¹ for juveniles I and II, respectively. The best times of anesthesia for both essential oils were obtained with 200 and 250 mg L⁻¹ for juveniles I and II, respectively. Blood glucose levels were higher in animals transported with 10 and 15 mg EOLS L⁻¹ and 15 mg EOCC L⁻¹. Hepatic glycogen levels were higher in animals transported without the addition of the essential oils. Juveniles II sedated with EOLS had lower VF than the other treatments. For transported fish, the volume of gill tissue and filament epithelium was smaller in fish of the control and 15 mg EOLS L⁻¹ groups. For secondary lamella, the lowest values occurred in fish from the 10 mg EOLS L⁻¹ treatment. In general, fish transported with 10 mg EOLS L⁻¹ showed less gill alterations than other transported fish. When the type of lesion was evaluated, the greatest changes occurred for the treatments 10 and 15 mg EOCC L⁻¹. In conclusion, EOLS and EOCC are efficient for handling at concentrations of 200 and 250 mg L⁻¹ for juveniles I and II, respectively. For transport of juveniles II for up to 8 h, 10 mg L⁻¹ of OELS can be used, because although this concentration has increased blood glucose, it decreased VF, did not affect water quality and did not cause irreversible damage to the gill tissue.

Keywords: anesthesia, ventilatory frequency, hematologic analysis, histopathology, sedation.

1. INTRODUÇÃO

O Brasil é reconhecido por ser um dos maiores fornecedores mundiais de peixes ornamentais, que em sua maioria são originários da região Amazônica (bacias dos rios Negro, Xingu e Tapajós), de onde provém cerca de 79% das espécies de peixes exportados do país (DE ARAUJO et al., 2020). Entre as espécies ornamentais, o acará-bandeira (*Pterophyllum scalare*) se destaca por ser considerado uma das mais atrativas provenientes de águas continentais (CHAPMAN et al., 1997). Ele possui uma ampla variedade de linhagens (marmorato, ouro, koi, leopardo, preto, fumaça e palhaço), cujo valor de produção em cativeiro chega ser dez vezes maior do que os indivíduos capturados em ambiente natural, favorecendo sua produção e reduzindo a pesca extrativista da espécie (TAKAHASHI et al., 2010).

No processo de produção e comércio de peixes ornamentais, os indivíduos passam por várias etapas, desde o manejo e transporte até chegarem ao seu destino, ou seja, lojistas e aquaristas (DE ARAUJO et al., 2017). Aproximadamente, cerca de dois bilhões de peixes ornamentais são transportados vivos (VANDERZWALMEN et al., 2020). Durante o transporte, os peixes permanecem embalados em sacos plásticos, às vezes em altas densidades de estocagem e, em alguns casos, podendo permanecer nestas condições por até 96 h (VIDAL et al., 2008; DE ARAUJO et al., 2017). Desta forma a qualidade da água é prejudicada em função do acúmulo de compostos excretados (GONCALVES JR. et al., 2013) e redução do oxigênio disponível (OLIVEIRA et al., 2019a,b). Além disso, durante o processo de condicionamento no transporte, os peixes são expostos a altos níveis de estresse, comprometendo seu bem-estar (SAMPAIO e FREIRE, 2016). Peixes submetidos a estas condições podem apresentar efeitos colaterais indesejáveis, como o comprometimento do sistema imunológico, redução do crescimento e mortalidade (ADAMANTE et al., 2008; ROSS e ROSS, 2008).

O uso de anestésicos na piscicultura é uma prática utilizada para ajudar nos processos de manejo e auxiliar na manutenção qualidade da água e na redução do estresse durante o transporte (curta ou longa duração), evitando prejuízos para saúde dos peixes (HOHLENWERGER et al., 2016; VANDERZWALMEN et al., 2020). Os óleos essenciais têm tido destaque como anestésicos, pois são considerados de fácil acesso e não causam danos aos manipuladores ou ao meio ambiente (ROMANELI et

al., 2018). Os produtos naturais derivados das plantas, como os óleos essenciais, têm se tornado uma alternativa viável nos procedimentos de pesquisa e produção, isso têm diminuído as injúrias sofridas pelos animais durante tais procedimentos e evitado em alguns casos, a morte do animal (OLIVEIRA et al., 2019a; BRANDÃO et al., 2021).

Dentre as plantas utilizadas para extração de óleo essencial encontram-se as plantas do gênero *Lippia*, que são comumente usadas na medicina popular em forma de infusão ou decocção devido suas ações farmacológicas como sedativo, ansiolítico e relaxante muscular (KAMPKE et al., 2018). O óleo essencial de *Lippia sidoides* Cham. (syn. *L. origanoides*) (OELS), planta endêmica do nordeste brasileiro conhecida popularmente como alecrim-pimenta, tem se mostrado eficaz como antibacteriano (MONTEIRO et al., 2021) e potencial anestésico em tambaqui (BRANDÃO et al., 2021). O óleo essencial de outra planta do mesmo gênero, *Lippia alba*, já se mostrou eficaz como anestésico para tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) (HOHLENWERGER et al., 2017) e tambaqui (*Colossoma macropomum*) (SILVA et al., 2020).

O capim limão (*Cymbopogon citratus*) (DC) (Stapf) é uma erva perene pertencente à família Poaceae, nativo da Ásia (OLADEJI et al., 2019). Comumente, seu componente principal é o citral, conhecido por suas propriedades imunomoduladoras, anti-inflamatórias, antissépticas, antimicrobianas e antifúngicas (AL-SAGHEER et al., 2017). Segundo Costa et al. (2011), o óleo essencial de *C. citratus* (OECC) apresenta efeito ansiolítico em camundongos (*Mus musculus*), sendo este efeito mediado via receptor GABA, e que mostrou ser eficiente como anestésico nos peixes ornamentais azul elétrico (*Sciaenochromis fryeri*) e labido amarelo (*Labidochromis caeruleus*) (KIZAK et al., 2018) e demonstrou ser eficiente ansiolítico para peixe-zebra (*Danio rerio*) (HACKE et al., 2020).

A adição de xenobióticos na água pode causar alterações no ambiente e consequentemente alterar as funções fisiológicas dos peixes. Nesse sentido, os estudos histopatológicos são ferramentas eficientes para detectar efeitos estressores de compostos químicos ou físicos através das análises do tecido branquial (SCHWAIGER et al., 1997; FERNANDES et al., 2007). O tecido branquial por possuir uma extensa área de superfície epitelial e estar em contato direto com o ambiente é, portanto, o primeiro alvo de xenobióticos (ou substâncias estranhas) (FERNANDES et al., 2007).

Assim, as brânquias dos peixes podem sofrer diretamente a ação desses estressores ao apresentar lesões branquiais. Essas lesões podem ser classificadas, segundo Poleksic e Mitrvic-Tutundzic (1994), em três estágios de severidade: estágio I: alterações de modo geral reversíveis e que não danificam os tecidos branquiais; II: alterações mais graves, levando a efeitos na função do tecido associado, podendo ser reversíveis e; estágio III: lesões graves e irreversíveis que podem afetar gravemente as funções vitais do órgão e conseqüentemente a morte.

Estudos prévios têm sido direcionados para avaliação de compostos presente nos óleos essenciais e seu uso na anestesia de peixes, pois além de efeito anestésico alguns possuem efeitos antimicrobiano, antioxidante, imunomodulador e redutor de estresse (YOUSEFI et al., 2018; OLIVEIRA et al., 2019a,b; AYDIN et al., 2020).

Assim, eles podem promover efeitos benéficos à saúde de peixes, sendo recomendados para indução anestésica (HOSEINI et al., 2018). Em adição, anestésicos oriundos de produtos naturais têm sobressaindo-se pela sua eficácia, principalmente, pelo menor número de efeitos colaterais e por apresentar baixa toxicidade quando comparados aos produtos sintéticos e drogas convencionais (TSUCHIYA, 2017).

Este é o primeiro estudo que avaliou tais óleos essenciais como sedativos e anestésicos para acará-bandeira. Assim, o objetivo do presente estudo foi verificar os efeitos de OELS e OECC tanto na indução e recuperação anestésica de exemplares de acará-bandeira, quanto como sedativos durante o transporte, considerando como parâmetros análises de qualidade da água, metabolismo e histologia do tecido branquial.

2. Revisão de Literatura

2.1 Comércio de peixes ornamentais

A aquicultura ornamental é uma das principais ferramentas para reduzir a pesca extrativista, além de fornecer peixes mais saudáveis e resistentes para sobreviver em ambiente de cultivo, reduzindo assim a sua suscetibilidade a doenças (FAO, 2017). O

mercado de peixes ornamentais desempenha um papel importante como fonte de renda para muitos países (STEVENS et al., 2017). Em 2017, o comércio destas espécies foi avaliado em aproximadamente US\$ 15 bilhões e a exportação global cresceu cerca de US\$ 181 milhões, entre 2000 e 2011 segundo dados da FAO (2017). Em 2017, o Brasil movimentou cerca de US\$ 6,3 milhões com base em exportações de cerca de 4,6 milhões de espécimes (SECEX, 2019).

Entretanto, apesar de sua relativa importância econômica, a movimentação de peixes nesta cadeia produtiva ainda é complexa, em virtude das dificuldades na logística de transporte (ausência de rotas aéreas diretas) de organismos vivos, desde sua origem até mercado consumidor (interno ou externo) (DE ARAUJO et al., 2017). Biondo et al. (2019) estimaram que 1,5 bilhões de peixes ornamentais marinhos e de água doce são comercializados por ano e, destes, aproximadamente 73% morrem durante o transporte.

Comumente, os peixes capturados no ambiente ou criados são encaminhados para centros urbanos do país de origem ou mesmo para outros países. Eles são embalados em sacos plásticos, alocados em caixas para viagens e contêineres internacionais (STEVENS et al., 2017). Tal manuseio e tempo de transporte geram estresse nos peixes e aumentam o risco de mortalidade (DE ARAUJO et al., 2017).

2.2 Acará-bandeira (*Pterophyllum scalare*, Lichtenstein, 1823)

No Brasil, a maioria das espécies de peixes ornamentais é originária da região Amazônica (PELICICE e AGOSTINHO, 2005). Estes são os casos de tetra cardinal (*Paracheirodon axelrodi*), acará severo (*Heros severus*) e acará-bandeira. O acará-bandeira é uma das espécies de peixes ornamentais mais conhecidas no mundo (MITJANA et al., 2014; OLIVEIRA et al., 2019a), principalmente devido à sua diversidade morfológica e padrões de cor. Apresenta alta relevância dentre as espécies de peixes ornamentais, sendo, portanto, uma das espécies mais comercializadas no mundo (VERAS et al., 2016; OLIVEIRA et al., 2019a).

Trata-se de um peixe onívoro, com uma alimentação variada, podendo ingerir plâncton, larvas de insetos, crustáceos, plantas e vermes (SALAZAR e OCAMPO,

2002). No ambiente natural, pode atingir até 15 cm de comprimento, onde habita águas levemente ácidas e com baixa dureza (CACHO et al., 1999). Peixes desta espécie possuem boa adaptação a diferentes ambientes, o que facilita sua comercialização (RIBEIRO et al., 2007). Contudo, é uma espécie sensível a procedimentos de manuseio e transporte, bem como à qualidade da água, o que pode afetar sua sobrevivência e desenvolvimento após o transporte (OLIVEIRA et al., 2019a).

2.3 Transporte de peixes

O transporte de peixes dentro de um sistema produtivo é realizado com propósitos diversos, desde reprodução e engorda, até o deslocamento vivo desses animais para comercialização (GOMES et al., 2003). Os peixes podem ser transportados em sacos plásticos contendo água e oxigênio inflado (sistema fechado) ou em caixas próprias para transporte com adição de oxigênio via aeração (sistema aberto) (BERKA, 1986).

Transporte em sacos plásticos geralmente é feito em altas densidades de carga. Atrelado a isto e ao tempo de transporte, a qualidade da água tende a diminuir em função do acúmulo de compostos excretados e redução de oxigênio disponível (VIDAL et al., 2008; GONCALVES JÚNIOR et al., 2013). As alterações fisiológicas em resposta ao estresse permitem que o animal responda de forma adaptativa ou compensatória a estes fatores. Com isso, o uso de anestésicos naturais no transporte de peixes, como óleos essenciais podem diminuir os efeitos prejudiciais do estresse, como gasto energético e excreção de compostos nitrogenados tóxicos (VIDAL et al., 2008; REZENDE et al., 2017).

2.4 Anestesia em peixes

De forma geral, os anestésicos podem ser classificados em sintéticos ou naturais. Os primeiros são derivados de produtos químicos, como é o caso da benzocaína. Ela é considerada um anestésico eficaz para peixes, pois tem indução e

recuperação rápida. O metanossulfonato de tricaína (MS-222) é um dos anestésicos mais utilizados na aquicultura no mundo (TOPIC POPOVIC et al., 2012; BOLASINA et al., 2017). Entretanto, anestésicos sintéticos geralmente podem causar efeitos adversos nos peixes (INOUE et al., 2003; FERNÁNDEZ-PARRA et al., 2017). Os óleos essenciais são constituídos por substâncias voláteis lipofílicas, em sua maioria odoríferas e líquidas presentes em diversas partes das plantas (VENTURA et al., 2019).

Os compostos sedativos e analgésicos presentes nos óleos essenciais têm sido cada vez mais utilizados facilitando manejos, mantendo o bem-estar e evitando possíveis danos aos peixes (OLIVEIRA et al., 2019b; VENTURA et al., 2019; BRANDÃO et al., 2021).

Além disso, aspectos econômicos, disponibilidade do produto, possíveis efeitos colaterais em peixes e humanos e considerações legais devem ser avaliados para a escolha de um anestésico eficaz (MARKING e MEYER, 1985). Um anestésico adequado deve restringir os movimentos ou paralisar os peixes rapidamente, possibilitando uma rápida recuperação (MITJANA et al., 2014).

O anestésico deve apresentar alta potência (anestesia em até 3 min), ampla disponibilidade, baixo custo e baixa ou nenhuma toxicidade. Eles também devem ser facilmente eliminados dos tecidos e órgãos de peixes ou não causar problemas para o consumo humano (MARKING e MEYER, 1985). Adicionalmente, tais anestésicos não podem ser prejudiciais ao ambiente, além de considerados menos agressivos à saúde humana, no que se refere aos resíduos presentes nos alimentos (SOARES e TAVARES-DIAS, 2013, VENTURA et al., 2019).

Além disso, anestésicos são comumente usados para facilitar o manuseio e o transporte de peixes, podendo reduzir ou mitigar seu estresse (CUNHA et al., 2011; TEIXEIRA et al., 2017). O estresse é minimizado através da diminuição da atividade do sistema nervoso central, reduzindo a capacidade de reação animal (SILVA-SOUZA et al., 2015).

Em adição, baixas concentrações anestésicas podem ser usadas para sedar peixes e, desta forma, eles podem tolerar períodos mais longos de transporte (por ex. 8 h) (TEIXEIRA et al., 2018). As concentrações necessárias de um óleo essencial para indução à anestesia podem variar de acordo com a espécie, sexo e tamanho do peixe (WOODY et al., 2002; READMAN et al., 2017).

As repostas ao estresse em peixes estão divididas em três categorias. A resposta primária está ligada ao sistema neuroendócrino que libera as catecolaminas (adrenalina e noradrenalina) na corrente sanguínea. A resposta secundária corresponde a mudanças fisiológicas e bioquímicas, aumentando os níveis de glicose e lactato no sangue. A resposta terciária é relativa ao desempenho, diminuindo atividades anabólicas de longo prazo, como o crescimento e ganho de peso (BARCELLOS et al., 2001; SOUZA et al., 2019).

2.5 Óleo essencial de *Lippia sidoides* (OELS)

As plantas do gênero *Lippia* possuem cerca de 200 espécimes entre ervas, arbustos e árvores de pequeno porte, tendo diferentes constituintes químicos em seus óleos essenciais (DOS SANTOS et al., 2015). *Lippia sidoides* (Cham) (syn. *L. origanoides*) é uma planta arbustiva, pertencente à família Verbenaceae, nativa da região Nordeste, conhecida popularmente como alecrim-bravo, alecrim-do-nordeste, alecrim-pimenta e estrepa-cavalo (O'LEARY et al., 2012; DOS SANTOS et al., 2015). Os principais constituintes do OELS são timol e carvacrol, entretanto é importante ressaltar que o teor desses constituintes pode variar de acordo com a idade da planta e região de plantio (SARAIVA et al., 2020; BRANDÃO et al., 2021).

O interesse para as aplicabilidades biológicas de *L. sidoides* deve-se ao seu uso na medicina popular, o qual é bem conhecido no tratamento antifúngico, antisséptico e contra infecções (DOS SANTOS et al., 2015). O timol, principal componente químico presente no OELS tem sido utilizado como modulador alostérico que ajuda no tratamento de alguns tipos de câncer (SARAIVA et al., 2020).

Na aquicultura o uso do OELS tem se mostrado eficaz no tratamento e combate a bactérias e como anestésico para mitigação de danos associados ao estresse proveniente de procedimentos de rotina (pesagem, mudança de tanque, despesca) e transporte de peixes (HASHIMOTO et al., 2016; SOARES et al., 2017; MONTEIRO et al., 2021; BRANDÃO et al., 2021).

2.6 Óleo essencial de *Cymbopogon citratus* (OECC)

Cymbopogon citratus (DC) (Stapf), popularmente conhecido como capim-limão ou capim-santo, pertence à família Poaceae. É uma planta nativa da Ásia e regiões do Sri Lanka, Nigéria, nordeste e sul da Índia. A planta foi introduzida no continente americano e atualmente tem ocorrência em todas as regiões brasileiras (EKPENYONG et al., 2015; OLADEJI et al., 2019). É uma planta perene que atinge até 1 m de altura, com folhas longas e estreitas. Ela é comumente utilizada na indústria alimentícia e farmacêutica em função de suas propriedades aromatizante, ansiolítica, anticonvulsivante, anti-hipertensiva, anti-inflamatória, hipoglicêmica, hipolipidêmica, antimicrobiana, espasmolítica, cardioprotetora, diurética, calmante e anestésica (GAYATHRI et al., 2010; DEVI et al., 2011).

Cymbopogon citratus contém alta quantidade de óleo essencial, em particular em suas folhas. É uma planta rica em citral (geraniol e neral) e α -oxobisabolene (OLADEJI et al., 2019).

Estudos prévios com os peixes ornamentais azul elétrico e labido amarelo submetidos a diferentes concentrações de OECC indicaram que eles foram induzidos à anestesia a partir da concentração de 50 $\mu\text{L L}^{-1}$ (KIZAK et al., 2018). Além disso, o óleo essencial de *Cymbopogon flexuosus*, que também contém citral como componente majoritário, foi eficaz para sedação e anestesia de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), tambacu (*Piaractus mesopotamicus* X *Colossoma macropomum*), (LIMMA-NETTO et al., 2017; 2018) e jundiá (*Rhamdia quelen*) (DOS SANTOS et al., 2017).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Óleo essencial

As plantas para produção de OELS e OECC foram cultivadas na região nordeste do Brasil no setor de plantas medicinais do Instituto Federal Sertão Pernambucano – Zona Rural (IF Sertão), Petrolina, PE, Brasil. Amostras das plantas

foram coletadas em março de 2018. Os óleos essenciais foram extraídos de folhas frescas das plantas por hidrodestilação usando um aparato tipo Clevenger durante 2 h (European Pharmacopeia, 2007) no Laboratório de Produtos Naturais do IF Sertão, Petrolina, PE, Brasil.

A determinação da composição química de cada óleo essencial foi realizada por cromatografia gasosa/espectrometria de massa (CG/EM) no Laboratório Multiusuário de Caracterização e Análise do Instituto de Pesquisa em Fármacos e Medicamento da Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, PB, Brasil. A análise de CG/EM foi realizada utilizando um cromatógrafo gasoso acoplado a um espectrômetro de massa (Shimadzu – GCMS-QP2010 Ultra – Barueri, SP, Brasil) a partir da injeção de 0,02 µL de óleo essencial puro. Os óleos essenciais foram armazenados em – 20° C em embalagem de vidro até a realização das análises e experimentos.

Os componentes dos óleos essenciais foram identificados por comparação do índice de retenção de Kovats e os espectros de massa em biblioteca espectral de massa (NIST, 2010). Os componentes majoritários encontrados para OELS foram o carvacrol (44,50%), *p*-cymene (14,06%) e timol (7,99%) e para o OECC foram *a*-citrinal (73,56%), myrcene (12,65%) e o geraniol (3,51%) (Anexos 1 e 2).

3.2 Local e animais

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética do Instituto de Biologia da Universidade Federal da Bahia (IBIO-UFBA) sob o protocolo 03/2019. Os procedimentos experimentais ocorreram no Laboratório de Estudo e Fisiologia e Fauna Aquática do IBIO-UFBA. Foram utilizados 332 exemplares de acará-bandeira provenientes de uma piscicultura comercial de Lauro de Freitas, BA, Brasil.

Previamente aos testes, os peixes foram mantidos em dois tanques de 500 L com aeração constante e filtros mecânicos e biológicos. Os juvenis foram alimentados quatro vezes ao dia (dieta comercial, 50% de proteína bruta, Sera Discus Color Red, Alemanha) por um período de aclimatação de 10 dias até a saciedade aparente. A alimentação foi suspensa 24 h antes do início dos experimentos.

3.3 Indução e recuperação anestésica

Foram testados peixes de dois tamanhos diferentes, denominados aqui neste estudo como juvenil I ($0,82 \pm 0,02$ g; $3,24 \pm 0,05$ cm) e juvenil II ($2,4 \pm 0,08$ g; $4,78 \pm 0,05$ cm). Os peixes foram transferidos para aquários de 2 L contendo diferentes concentrações de cada óleo essencial: 10, 25, 50, 75, 100, 150, 200 e 250 mg L⁻¹ diluído em etanol absoluto (1:10). As densidades para OELS e OECC foram, respectivamente, de 0,93 e 0,90 g cm⁻³. Como controle, os peixes foram submetidos à solução de 2.250 mg L⁻¹ de etanol, equivalente a maior concentração usada (250 mg L⁻¹). Também foi feito um segundo grupo controle com peixes mantidos em aquários contendo apenas água.

Foram utilizados 8 peixes para cada tratamento. Em cada aquário foram colocados dois peixes por vez, visando avaliação para sedação (perda parcial do equilíbrio e natação errática) e anestesia (perda total do equilíbrio e cessamento da natação) (adaptado de OLIVEIRA et al., 2019a). O tempo de observação foi de até 30 min, com vistas a avaliar se os peixes atingiram o estágio de anestesia. Para os peixes que não foram anestesiados em 30 min, foi anotado o tempo de sedação. Os animais que atingiram o estágio de anestesia foram transferidos para aquários de 5 L contendo água declorada livre de anestésico para avaliar o tempo para recuperação anestésica (natação, equilíbrio e comportamentos semelhantes aos peixes dos grupos controle) (adaptado de SENA et al., 2016). A sobrevivência foi monitorada até 72 h após o experimento.

3.4 Procedimento de transporte

Ao todo, foram utilizados 48 exemplares de juvenis II de acará-bandeira. Foram avaliados exemplares submetidos ao transporte sem adição de óleo essencial (controle) durante 8 h. A mesma avaliação foi feita com exemplares transportados com 10 e 15 mg L⁻¹ de cada óleo essencial no mesmo tempo (8 h). Em experimento piloto, foram testados 10, 15 e 20 e 25 mg L⁻¹ durante 8 h de transporte e foi verificado que

neste tempo, 20 e 25 mg L⁻¹ de ambos os óleos essenciais demonstraram potencial para induzir os peixes à anestesia. Portanto, optou-se por utilizar as concentrações de 10 e 15 mg L⁻¹ para o experimento de transporte. Além dos peixes transportados, outros 8 peixes foram avaliados antes do transporte.

Foram colocados dois peixes por sacola plástica (20 x 40 cm), contendo 1 L de água e o restante preenchido com oxigênio puro (n = 8 peixes por tratamento). As embalagens de transporte foram então acondicionadas em caixas e transportados por carro (temperatura e umidade do ar de 30 °C e 75 %, respectivamente), simulando o transporte rotineiro de peixes ornamentais.

A análise da qualidade de água foi realizada no início e no final do experimento para os seguintes parâmetros: nitrito, dureza total, cloro, dióxido de carbono (Kit JBL GmbH & Co. KG, Neuhofen Alemanha), temperatura e oxigênio dissolvido foi medido com medidor de oxigênio (YSI 200A, Yellow Springs, EUA), pH com medidor (HmPA-210P, Piracicaba, Brasil), a amônia foi medida com kit comercial da Alfatecnoquímica (Florianópolis, Brasil).

3.5 Determinações bioquímicas

Antes (0 h) e depois do transporte (8 h), amostras de sangue, músculo e brânquias foram coletadas de todos os exemplares. O sangue foi coletado por meio de punção venocaudal utilizando seringa heparinizada para determinação de glicose sanguínea. A glicemia foi determinada pelo uso de tiras de microfilme e um medidor portátil (Accu-Chek; Mannheim, Alemanha) imediatamente após a coleta. Após, os peixes foram eutanasiados com uma concentração letal de eugenol (50 mg L⁻¹) (adaptado de Oliveira et al., 2019a). Posteriormente foi feita coleta de músculo e brânquias.

O músculo foi utilizado para determinar a concentração de glicogênio de acordo com metodologia de Bidinotto et al. (1997). Para isto, foram pesadas amostras de cada tecido (100 mg) e colocadas em tubos de ensaio para homogeneização. Foi adicionado 1,0 mL de hidróxido de potássio 6,0 N, o qual foi em seguida incubado por 3 min em banho-maria a 100 °C. Posteriormente à dissolução, 100 µL deste extrato foi transferido para um tubo e adicionado 250 µL de etanol e 100 µL de sulfato de

potássio 10%, seguido de agitação. As amostras foram então centrifugadas a 3.000 rpm por 3 min. O sobrenadante foi descartado por inversão e o precipitado resuspendido em 2 mL de água destilada. Posteriormente, realizou-se transferência de 100 µL da amostra, 250 µL de enol e 1 mL de ácido sulfúrico para parar a reação. Logo após foi realizada a leitura em espectrofotômetro a 480 nm.

3.6 Análises branquiais

As brânquias destinadas à avaliação histopatológica foram fixadas em formalina tamponada neutra a 10% por 18 h, sendo depois lavadas em água corrente e acondicionadas em etanol 70%. Subseqüentemente foram retiradas amostras (um arco branquial subdividido em três partes) de cada peixe para preparação das lâminas (n = 8 peixes por tratamento). As amostras foram então desidratadas em uma seqüência crescente de álcool etílico e xilol por 1 h. Posteriormente, foram imersas em parafina por 3 h para então serem emblocadas em 56 °C. Em seguida, os blocos foram armazenados em geladeira por cerca de 12 h e então foram realizados cortes por meio de um micrótomo (Zeiss Hyrax M15, Alemanha) com cortes transversais (3 µm), sendo fixados em lâminas e submetidos a coloração pela técnica de hematoxilina-eosina (LUNA, 1968).

As lâminas foram montadas em meio Entellan® e analisadas sob microscopia de luz com objetiva de 40x. Assim, foram obtidas 10 imagens de cada indivíduo (80 fotos por tratamento) de campos distintos com uma câmera digital (Axio Cam ICc3, Zeiss, Alemanha) acoplada ao microscópio (Axio Scope, Zeiss, Alemanha) e analisadas com o programa Axion Vision Le® 4.8.2 (Zeiss).

As quantificações foram realizadas pelo método de Cavalieri (MANDARIM-DE-LACERDA, 2003; FIEDLER et al., 2020), que consiste em um sistema isotrópico de contagem de pontos adquiridos de uma grade de pontos sobreposta à imagem histológica a ser analisada. De acordo com os princípios da estereologia, em tecido isotrópico, a área de distribuição de uma dada estrutura, determinada em uma secção bidimensional da estrutura, é proporcional ao volume de distribuição dessa estrutura. Assim, a densidade volumétrica dos componentes histológicos foi calculada de acordo com a equação $V_v (\%) = P_P/P_T \times 100$, em que V_v é a densidade volumétrica, P é o

componente tecidual a ser considerado, P é o número de pontos que incide sobre o componente tecidual a ser considerado, e PT é o número de pontos do sistema testado (adaptado de MANDARIM-DE-LACERDA, 2003).

Para a contagem foi utilizada uma grade de pontos retangular de 21 x 29,7 cm, com 1 cm entre os pontos para estimar a densidade volumétrica de tecido branquial (TB), lamela secundária (SL), epitélio do filamento (EF), hiperplasia, fusão da SL (FSL), deslocamento do epitélio (DE), proliferação de ionócitos (PInc), proliferação de células de mucosa (PCM), edema, hemorragia, aneurisma, fibrose e necrose (MONTEIRO, 2008).

As imagens foram usadas também para quantificar histopatologias branquiais nos peixes submetidos a cada tratamento. As histopatologias branquiais foram classificadas em três estágios (I, II e III). O índice de alteração histopatológica (HAI) foi calculado de acordo com a equação: $I = \sum a_i + 10 \sum b_i + 10^2 \sum c_i$, onde I é o grau de mudança em uma única brânquia, a é igual alterações de estágio I (alterações que não afetam as funções do órgão), b é igual alterações de estágio II (alterações leves a moderadas que não afetam as funções do órgão) e c é igual alterações de estágio III (alterações graves ou irreversíveis) (POLEKSIC e MITROVIC-TUTUNDZIC, 1994). Os valores de HAI (em %) foram considerados em cinco categorias: $< 0,10$ = funcionamento normal do órgão; $0,11-0,20$ = alterações leves; $0,21-0,50$ = danos moderados; $0,51-1,00$ = lesões severas e; $> 1,00$ = danos irreversíveis (POLEKSIC e MITROVIC-TUTUNDZIC, 1994).

3.7 Frequência ventilatória

Juvenis II de acará-bandeira ($n = 40$, sendo um indivíduo por aquário de 10 L) que não foram submetidos ao transporte foram utilizados por tratamento nas mesmas concentrações usadas no procedimento de transporte ($0, 10$ e 15 mg L^{-1} de cada óleo essencial) para avaliar a frequência ventilatória (FV) em $0; 0,5; 1; 2; 3, 4, 5, 6, 7$ e 8 h de exposição. Cada peixe foi utilizado apenas uma vez. A FV foi quantificada por contagem visual de 20 movimentos operculares/bucais sucessivos, medindo o tempo decorrido com um cronômetro (adaptado de HOHLENWERGER et al., 2017).

3.8 Análise estatística

Os dados foram apresentados como média \pm erro padrão. Todos os dados foram normais e apresentaram homocedasticidade das variâncias de acordo com os testes de Shapiro-Wilk e Levene, respectivamente. Foi realizada regressão potência entre as concentrações de cada óleo essencial *versus* tempo para verificar os estádios de sedação, anestesia ou recuperação anestésica. Para análise da FV foi feita análise de variância (ANOVA) de duas vias (tempo X tratamento), seguida de teste post-hoc de Tukey. Para as demais análises, foi feita ANOVA de uma via, seguida de teste post-hoc de Tukey para comparação dos tratamentos após o transporte e teste de Dunnett para comparação destes tratamentos com o grupo denominado “antes do transporte”. Significância foi considerada em 95% ($p < 0,05$).

4. RESULTADOS

4.1 Indução anestésica

Os juvenis I e II de acará-bandeira expostos às diferentes concentrações de OELS e OECC não apresentaram mortalidade após 72 h. A concentração de 10 mg L⁻¹ de ambos os óleos essenciais causou sedação apenas em juvenis I (Fig.1A e 2A). Nos juvenis II, a sedação ocorreu com a concentração de 25 mg L⁻¹ para ambos os óleos essenciais (Fig.1B e 2B).

O OELS na concentração de 25 mg L⁻¹ provocou anestesia para juvenil I (Fig.1C). Já para juvenil II, a anestesia foi verificada em concentrações acima de 50 mg L⁻¹ (Fig. 1D). Para o OECC, a anestesia ocorreu a partir de 50 mg L⁻¹ para juvenis I e II (Fig. 2C e 2D). Nenhuma relação foi observada entre a concentração de OELS ou OECC e a duração da recuperação anestésica nos juvenis I (Fig. 1E e 2E) e II (Fig. 1F e 2F).

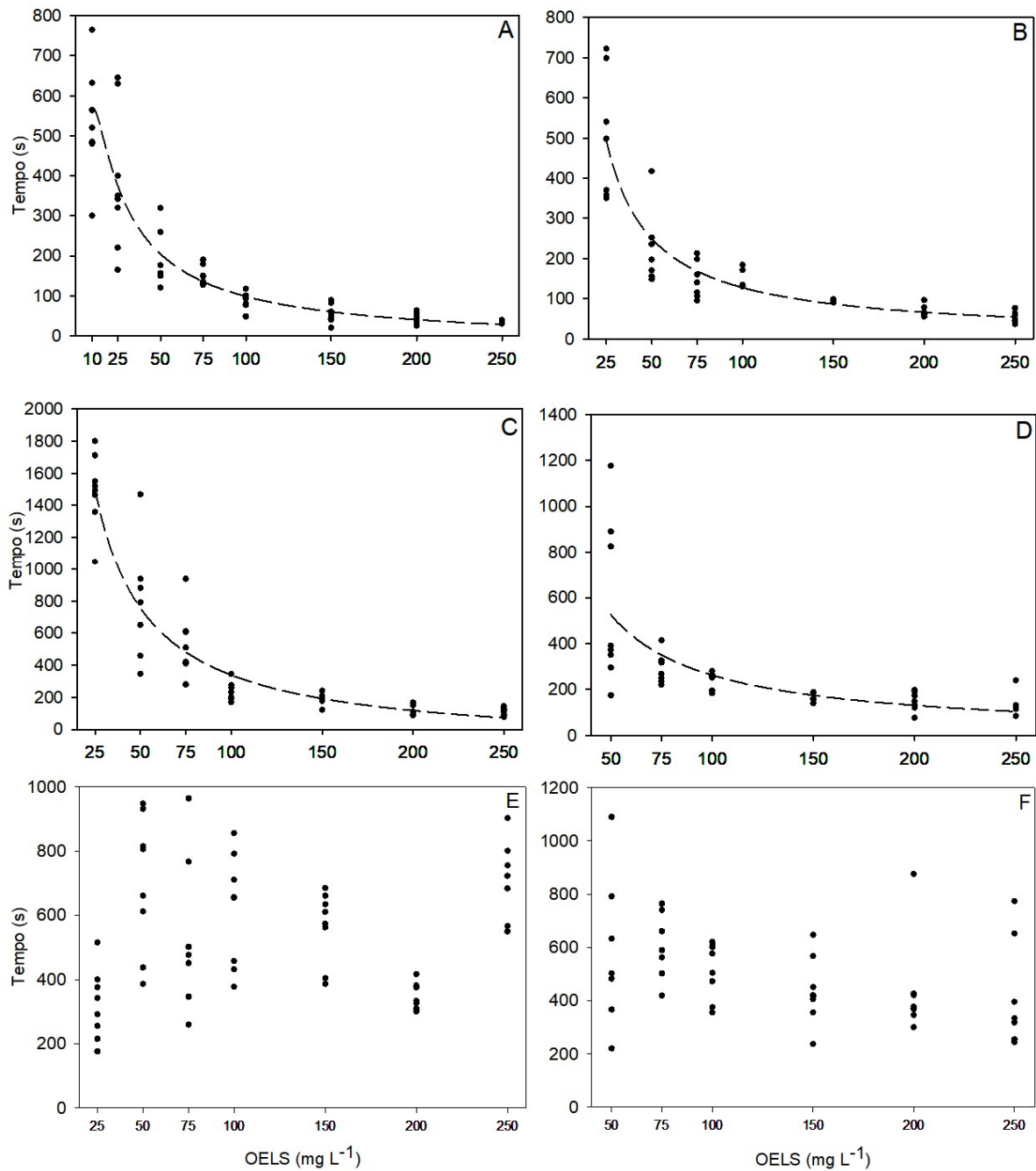


Figura 1. Tempos de sedação, anestesia e recuperação anestésica para juvenis I (A, C e E, respectivamente) e II (B, D e F, respectivamente) de acará-bandeira (*Pterophyllum scalare*) em diferentes concentrações de óleo essencial de *Lippia sidoides* (OELS) (n = 8 peixes por tratamento). Equações: A: $y = 5123x^{-0,884}$; $R^2 = 0,84$; B: $y = 7534x^{-0,88}$; $R^2 = 0,87$; C: $y = 87622x^{-1,245}$; $R^2 = 0,89$; D: $y = 10934x^{-0,82}$; $R^2 = 0,66$.

Os melhores tempos de anestesia e recuperação anestésica ocorreram com 200 mg L⁻¹ para ambos os óleos essenciais para juvenil I. Esta concentração

apresentou os menores tempos de anestesia e recuperação anestésica, para OEELS, que foram de 115,38 e 343,25 s, respectivamente (Fig. 1C e 1E) e para OECC, que foram de 239,25 e 349,75 s, respectivamente (Fig. 2C e 2E).

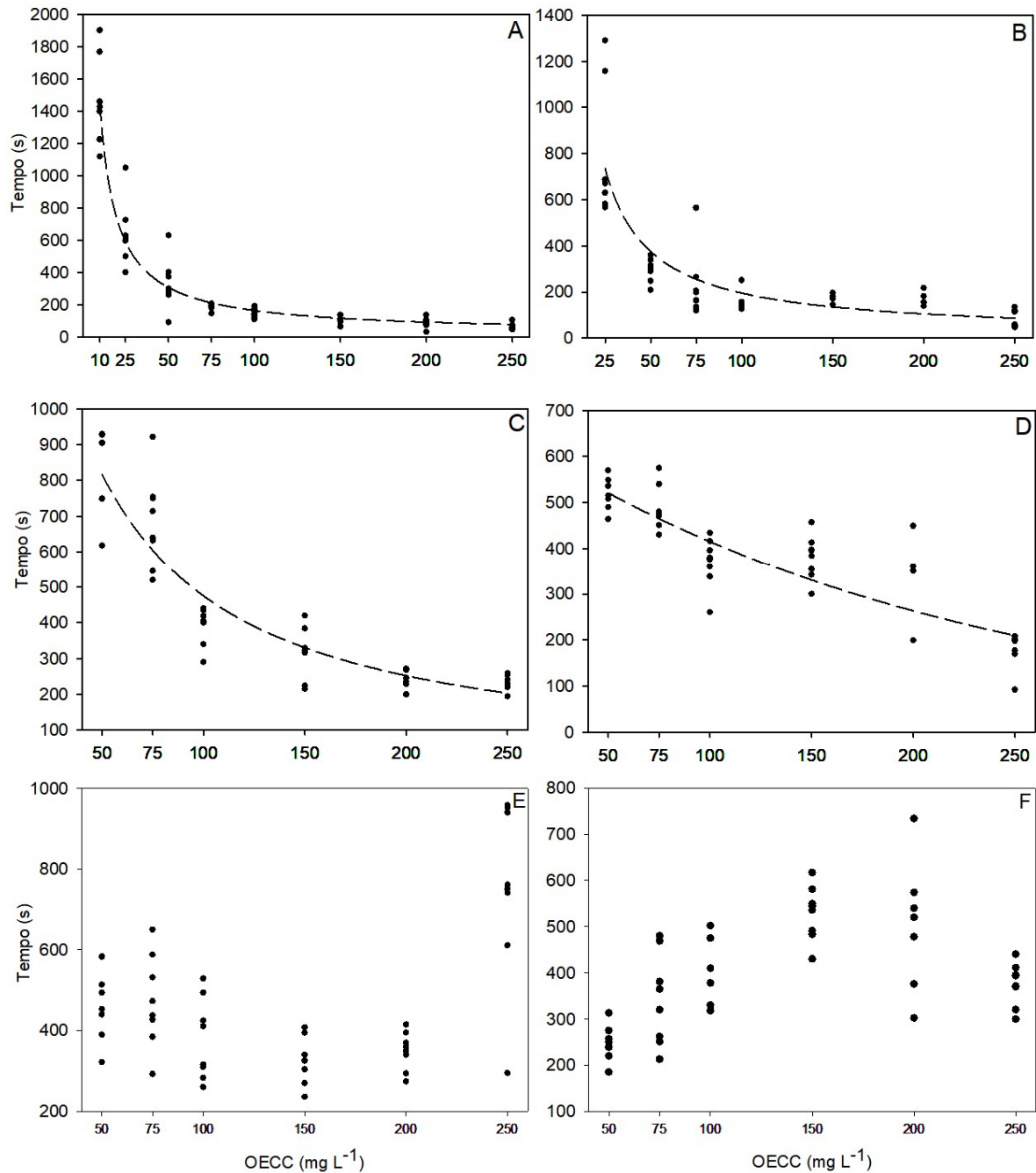


Figura 2. Tempos de sedação, anestesia e recuperação anestésica para juvenis I (A, C e E, respectivamente) e II (B, D e F, respectivamente) de acará-bandeira (*Pterophyllum scalare*) em diferentes concentrações de óleo essencial de *Cymbopogon citratus* (OECC) (n = 8 peixes por tratamento). Equações: A: $y = 13331x$

$0,973$; $R^2 = 0,90$; B: $y = 7087x^{-0,77}$; $R^2 = 0,70$; C: $y = 28029x^{-0,899}$; $R^2 = 0,83$; D: $y = 7139x^{0,63}$; $R^2 = 0,63$.

Para juvenil II, os melhores tempos de sedação, anestesia e recuperação anestésica ocorreram com 250 mg L^{-1} para ambos os óleos essenciais. O OELS apresentou tempos de 128,88 e 420,39 s, respectivamente (Fig.1D e 1F). Já para OECC, verificaram-se tempos de 163,63 s e 375,13 s, respectivamente (Fig. 2D e 2F).

4.2 Transporte de juvenis II

4.2.1 Qualidade de água

Todos os tratamentos após o transporte apresentaram temperatura da água significativamente superior ao grupo antes do transporte. Os demais parâmetros de qualidade da água não diferiram significativamente entre os tratamentos (Tabela 1).

Tabela 1. Qualidade de água antes e após o transporte (8 h) de juvenis II de acará-bandeira (*Pterophyllum scalare*) expostos a diferentes concentrações dos óleos essenciais de *Lippia sidoides* (OELS) e *Cymbopogon citratus* (OECC).

Variáveis	Antes do transporte	Após o transporte (8 h)				
		Controle	10 mg L ⁻¹ OELS	15 mg L ⁻¹ OELS	10 mg L ⁻¹ OECC	15 mg L ⁻¹ OECC
Temp	28,20 ± 0,12	30,07 ± 0,07*	29,97 ± 0,33*	30,07 ± 0,07*	30,17 ± 0,03*	30,03 ± 0,07*
OD	10,81 ± 0,23	9,06 ± 0,15	9,48 ± 0,77	8,73 ± 0,32	9,03 ± 0,29	10,61 ± 0,56
pH	6,72 ± 0,07	6,62 ± 0,06	6,61 ± 0,08	6,58 ± 0,05	6,58 ± 0,05	6,56 ± 0,05
Dureza	8,00 ± 0,29	3,33 ± 3,33	3,33 ± 0,33	3,33 ± 0,33	4,00 ± 0,29	3,00 ± 0,29
Cloro	0,10 ± 0,10	0,27 ± 0,27	0,53 ± 0,27	0,53 ± 0,27	0,53 ± 0,27	0,53 ± 0,27
DC	35,00 ± 2,89	35,00 ± 2,89	35,00 ± 2,89	31,67 ± 3,33	31,67 ± 3,33	35,00 ± 2,89
Nitrito	0,08 ± 0,08	0,25 ± 0,00	0,25 ± 0,00	0,25 ± 0,00	0,25 ± 0,00	0,25 ± 0,00
AMT	1,00 ± 0,29	2,67 ± 0,83	2,00 ± 0,00	2,50 ± 0,50	2,17 ± 0,73	2,17 ± 0,73

Temperatura (Temp) é expressa em °C, oxigênio dissolvido (OD) é expresso em mg L⁻¹ O₂, dureza total é expressa em mgL⁻¹ CaCO₃, cloro é expresso em mg L⁻¹ Cl₂, dióxido de carbono (DC) é expresso em mg L⁻¹ CO₂, nitrito é expresso em mg L⁻¹ N-NO₂ e amônia total (AMT) é expressa em mg L⁻¹ N-NH₃. Os dados são expressos com média ± erro padrão (n = 4 repetições por tratamento). Os tratamentos após o

transporte não diferiram significativamente ($p > 0,05$). * Indica diferença significativa entre o tratamento antes do transporte e os tratamentos após o transporte ($p < 0,05$).

4.2.2 Análises bioquímicas

Os níveis de glicose sanguínea foram significativamente maiores nos animais exposto aos tratamentos 10 mg L⁻¹ de OELS ($p < 0,001$), 15 mg L⁻¹ de OELS ($p = 0,008$) e 15 mg L⁻¹ de OECC ($p = 0,036$) em relação ao grupo transportado sem adição de óleo essencial (Figura 3 A). Os peixes que foram transportados sem adição de óleo essencial apresentaram valores de glicogênio muscular significativamente maior que os peixes não transportados ($p = 0,003$) ou transportados com 10 ou 15 mg L⁻¹ de OELS ($p < 0,001$ e $0,001$, respectivamente) ou 10 ou 15 mg L⁻¹ de OECC ($p = 0,002$ e $0,001$, respectivamente) (Figura 3 B).

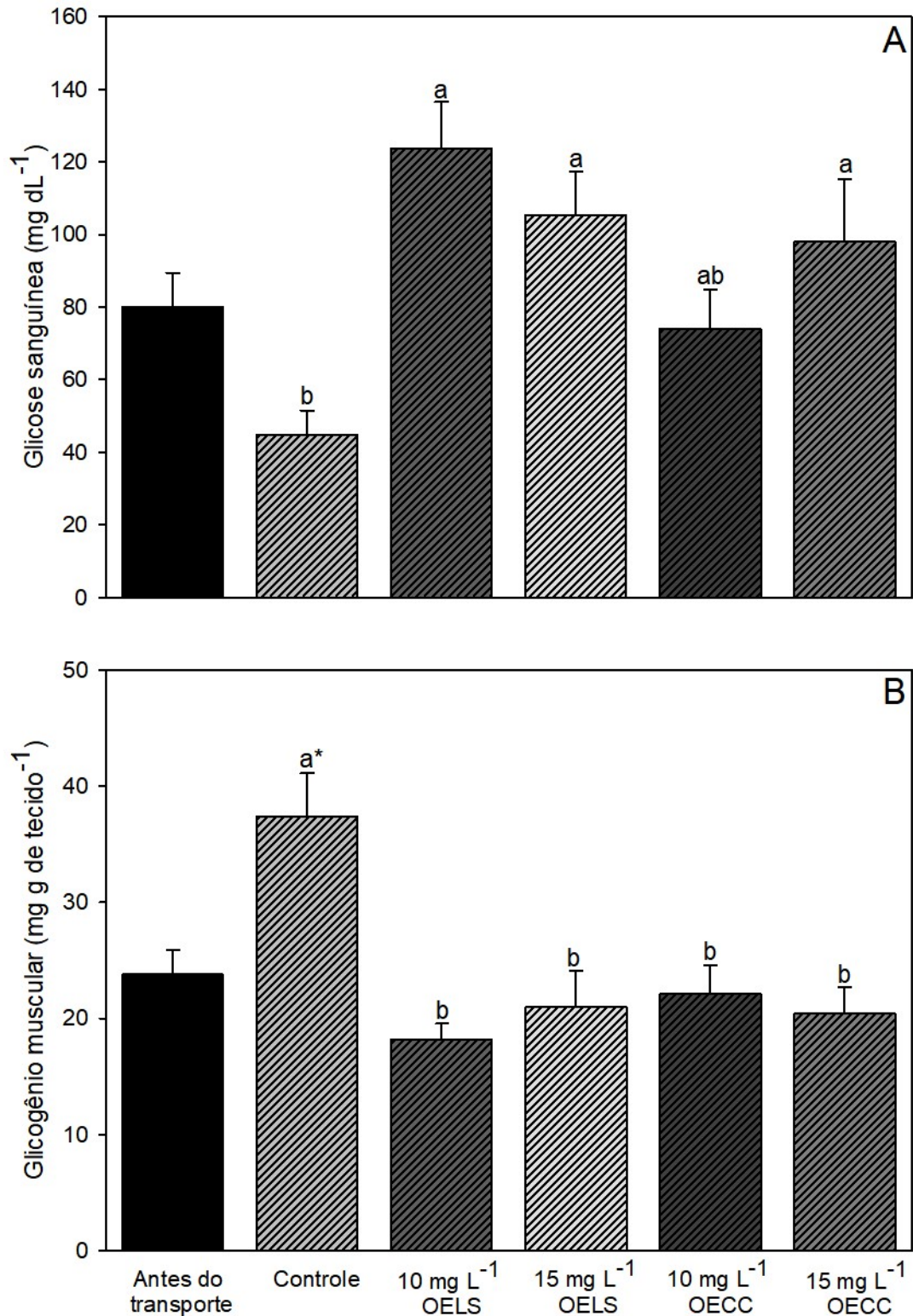


Figura 3. Efeito dos óleos essenciais de *Lippia sidoides* (OELS) e *Cymbopogon citratus* (OECC) para glicose sanguínea (A) e glicogênio muscular (B) antes e após o transporte (8 h) em juvenis II de acará-bandeira (*Pterophyllum scalare*). Dados são expressos como média \pm erro padrão (n = 8 peixes por tratamento). Letras diferentes

indicam diferenças significativas entre os tratamentos após o transporte ($p < 0,05$). * Indica diferença significativa entre o tratamento antes do transporte e os tratamentos após o transporte ($p < 0,05$).

4.2.3 Análises branquiais

A densidade de volume do tecido branquial foi significativamente maior nos tratamentos com 10 mg L⁻¹ de OELS e 10 e 15 mg L⁻¹ de OECC em comparação aos animais antes do transporte ($p = 0,005$, $0,002$ e $0,041$, respectivamente), transportados sem adição de óleo essencial ($p = 0,001$, $< 0,001$ e $0,007$, respectivamente) ou transportados com 15 mg L⁻¹ de OELS ($p = 0,006$, $0,002$ e $0,049$, respectivamente) (Tabela 2).

Ainda de acordo com as análises estereológicas, a densidade de volume das lamelas secundárias foi significativamente maior nos grupos antes do transporte e transportados sem adição de óleo essencial ou com adição de 15 mg L⁻¹ de OELS do que no grupo sedado com 10 mg L⁻¹ de OELS ($p = 0,049$, $0,004$ e $0,043$, respectivamente) (Tabela 2).

A densidade de volume do epitélio do filamento nos peixes que foram transportados com 10 mg L⁻¹ de OELS e 10 e 15 mg L⁻¹ de OECC foi significativamente maior em comparação aos animais transportados com 15 mg L⁻¹ de OELS ($p = 0,043$, $0,008$ e $0,017$, respectivamente) (Tabela 2).

Tabela 2. Densidade volumétrica (Vv,%) das brânquias de juvenis II de acará-bandeira (*Pterophyllum scalare*) expostos a diferentes concentrações dos óleos essenciais de *Lippia sidoides* (OELS) e *Cymbopogon citratus* (OECC) antes e após o transporte (8 h).

	Antes do Transporte		Após o transporte (8 h)			
	Controle	10 mg L ⁻¹ OELS	15 mg L ⁻¹ OELS	10 mg L ⁻¹ OECC	15 mg L ⁻¹ OECC	
TB	35,91±1,04	34,83±0,6 ^b	41,99±1,49 ^{a,*}	35,81±0,9 ^b	42,50±0,88 ^{a,*}	40,73±1,45 ^{a,*}
SL	30,15±2,10	32,69±1,52 ^a	22,43±2,00 ^{b,*}	30,29±1,62 ^a	25,95±2,03 ^{ab}	26,88±1,46 ^{ab}
EF	32,80±1,95	32,16±1,82 ^{ab}	37,19±1,00 ^a	29,69±2,44 ^b	38,81± 1,51 ^a	38,08± 1,38 ^a

Vv = densidade volumétrica. TB = tecido branquial. SL = lamela secundaria. EF = epitélio do filamento. Dados são expressos como média ± erro padrão (n = 8 peixes

por tratamento). Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos após o transporte ($p < 0,05$). * Indica diferença significativa em relação à antes do transporte ($p < 0,05$).

Os animais submetidos ao transporte apresentaram alterações significativamente maiores do que aqueles não transportados para estágio I ($p < 0,001$ para todos os tratamentos) e II ($p < 0,001$ para todos os tratamentos). Para o estágio III, os peixes transportados sem adição de óleo essencial ($p = 0,012$) ou com adição de 15 mg L^{-1} de OELS, 10 e 15 mg L^{-1} de OECC ($p = 0,001$) apresentaram alterações significativamente maiores do que os peixes que não foram transportados. Os animais transportados sem adição de óleo essencial ($p < 0,001$) ou transportados com adição de 15 mg L^{-1} de OELS ($p < 0,004$) e 10 e 15 mg L^{-1} de OECC ($p < 0,001$ para ambos) apresentaram mais alterações de estágio I do que os indivíduos transportados com 10 mg L^{-1} OELS (Tabela 3, Figura 4).

Tabela 3. Índice de alteração histopatológica (HAI, %) em brânquias de juvenis II de acará-bandeira (*Pterophyllum scalare*) expostos a diferentes concentrações dos óleos essenciais de *Lippia sidoides* (OELS) e *Cymbopogon citratus* (OECC) antes e após o transporte (8 h).

Estágios	Antes do transporte		Após o transporte (8 h)			
	Controle		10 mg L ⁻¹ OELS	15 mg L ⁻¹ OELS	10 mg L ⁻¹ OECC	15 mg L ⁻¹ OECC
I	0,03±0,00	0,07±0,00 ^{a,*}	0,05±0,00 ^{b,*}	0,07±0,00 ^{a,*}	0,08±0,00 ^{a,*}	0,08±0,00 ^{a,*}
II	0,17±0,03	0,41±0,05 [*]	0,41±0,03 [*]	0,41±0,03 [*]	0,48±0,03 [*]	0,50±0,04 [*]
III	0,19±0,13	1,13±0,18 [*]	0,89±0,26	1,38±0,13 [*]	1,38±0,21 [*]	1,38±0,18 [*]

I = alterações de primeiro estágio. II = alterações de segundo estágio. III = alterações de terceiro estágio. Dados são expressos como média ± erro padrão (n = 8 peixes por tratamento). Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos após o transporte ($p < 0,05$). * Indica diferença significativa entre o tratamento antes do transporte e os tratamentos após o transporte ($p < 0,05$).

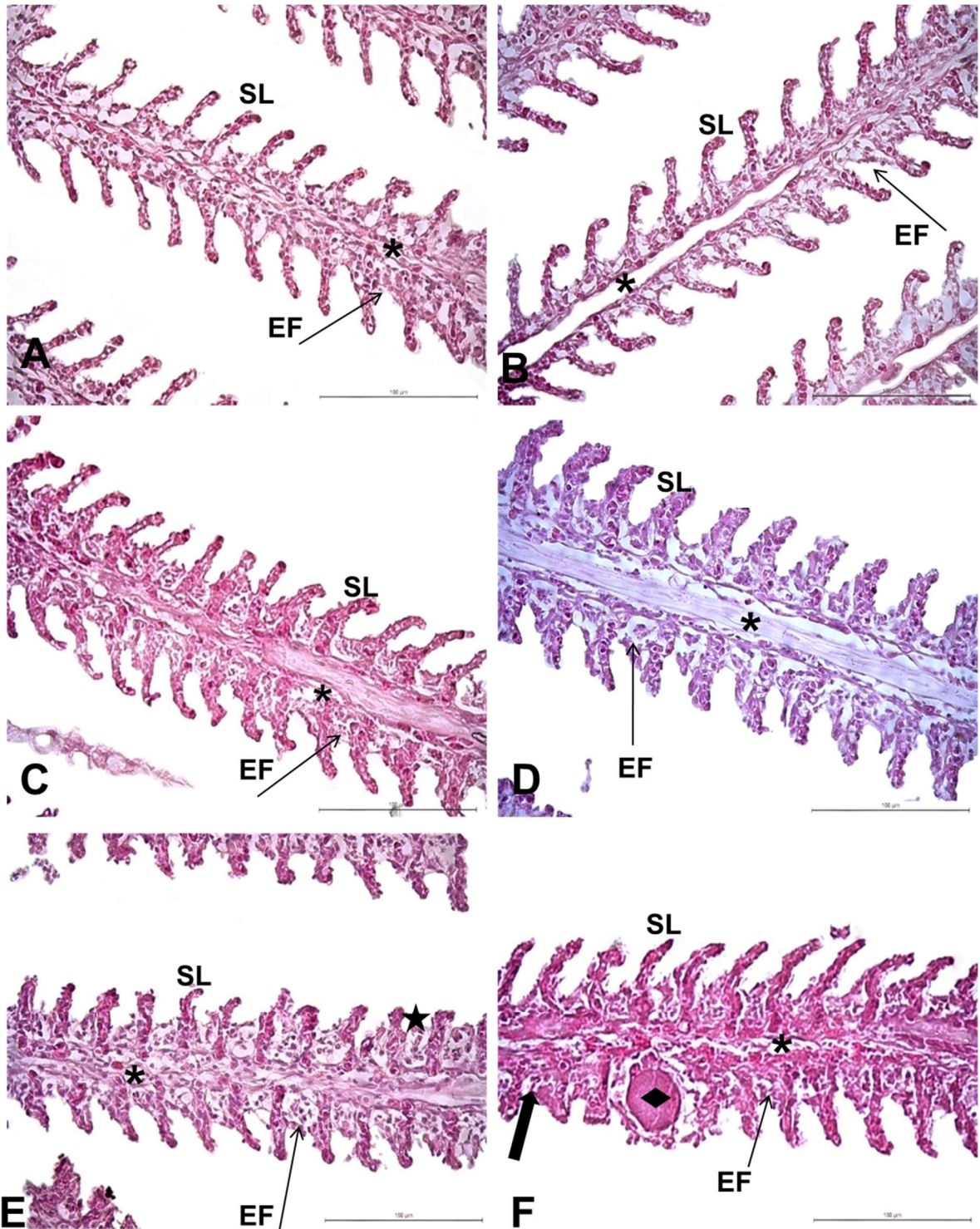


Figura 4. Seções histológicas de tecido branquial de juvenis II de acará-bandeira (*Pterophyllum scalare*) (n = 8 peixes por tratamento) antes (A) e após o transporte (8 h) sem adição de óleo essencial (B) ou com adição de 10 e 15 mg L⁻¹ de óleo essencial de *Lippia sidoides* (C e D, respectivamente) e 10 e 15 mg L⁻¹ de óleo essencial de *Cymbopogon citratus* (E e F, respectivamente). Brânquias coradas com hematoxilina eosina, com objetiva de 40 X. Barra = 100 μm. * = lamela primária, SL= lamela

secundária, EF = epitélio do filamento. E: peixes transportados com 10 mg L⁻¹ de OECC mostrando hiperplasia (estrela). F: peixes transportados com 15 mg L⁻¹ de OECC mostrando encurtamento da lamela secundária (seta larga) e aneurisma (losango).

Os peixes submetidos ao transporte com 10 mg L⁻¹ de OELS ou OECC apresentaram percentuais significativamente maiores para fusão das lamelas secundárias (estágio I) do que peixes não transportados ($p = 0,013$ e $< 0,001$, respectivamente) ou transportados em adição de óleo essencial ($p = 0,005$ e $< 0,001$, respectivamente). Em adição, o tratamento 10 mg L⁻¹ de OECC apresentou percentuais significativamente maiores para fusão das lamelas secundárias do que o tratamento 15 mg L⁻¹ de OELS e OECC ($p < 0,001$ e $0,001$, respectivamente). A avaliação de deslocamento de epitélio (estágio I) demonstrou que os juvenis transportados com 10 mg L⁻¹ de OELS ou OECC apresentaram percentuais significativamente maiores do que os peixes dos grupos controle 0 h ($p = 0,001$ e $0,002$, respectivamente) e controle 8 h ($p < 0,001$ e $0,001$, respectivamente). Para edema, os tratamentos 10 e 15 mg L⁻¹ de OECC tiveram percentuais significativamente maiores do que o grupo controle 0 h ($p < 0,006$ e $0,011$, respectivamente). As demais lesões do estágio I (hiperplasia e proliferação de ionócitos e células da mucosa) não apresentaram diferenças entre os tratamentos ($p > 0,05$) (Tabela 4).

Para fibrose (estágio III), apenas os animais transportados com 10 mg L⁻¹ de OECC tiveram percentuais significativamente maiores quando comparados com àqueles não transportados ou transportados sem adição de óleo essencial ou com adição de 15 mg L⁻¹ de OELS ($p < 0,003$, $0,011$ e $< 0,006$, respectivamente). Não ocorreram diferenças significativas para hemorragia, aneurisma (estágio II) e necrose (estágio III) ($p > 0,05$) (Tabela 4).

Tabela 4. Densidade volumétrica (%) das lesões nas brânquias de juvenis II de acará-bandeira (*Pterophyllum scalare*) exposto a diferentes concentrações dos óleos essenciais de *Lippia sidoides* (OELS) e *Cymbopogon citratus* (OECC) antes e após o transporte (8 h).

Vv% Alterações	Antes do Transporte		Após o transporte (8 h)			
	Controle		10 mg L ⁻¹ OELS	15 mg L ⁻¹ OELS	10 mg L ⁻¹ OECC	15 mg L ⁻¹ OECC

Estágio I						
Hiperplasia	2,45±0,67	3,95±2,34	6,60±1,56	4,47±1,22	6,15±1,67	4,74±2,11
FSL	2,89±2,10	1,44±0,79 ^c	16,22±3,90 ^{ab*}	5,65±1,60 ^{bc}	25,00±3,00 ^{a*}	8,38±3,50 ^{bc}
DE	8,33±2,10	6,50±3,23 ^b	40,60±7,13 ^{a*}	27,20±3,70 ^{ab}	37,40±7,10 ^{a*}	20,90±4,74 ^{ab}
Plnc	8,16±0,31	9,26±0,56	7,24±0,38	8,00±0,50	7,32±0,54	6,85±0,93
PCM	8,20±0,25	8,05±0,89	7,56±0,36	8,75±0,52	8,62±0,73	8,35±0,72
Edema	0,26±0,06	0,59±0,20	0,51±0,13	0,58±0,20	1,00±0,14 [*]	1,04±0,17 [*]
Estágio II						
Hemorragia	0,96±0,09	1,43±0,13	0,88±0,13	1,00±0,30	1,01±0,20	1,10±0,25
Aneurisma	0,28±0,19	0,20±0,07	0,15±0,04	0,30±0,10	0,26±0,10	0,45±0,17
Estágio III						
Fibrose	0,20±0,08	0,25±0,06 ^b	0,47±0,10 ^{ab}	0,22±0,10 ^b	0,64±0,08 ^{a*}	0,40±0,10 ^{ab}
Necrose	0,27±0,06	0,70±0,13	0,60±0,12	0,63±0,24	0,77±0,15	0,68±0,17

FSL = fusão das lamelas secundárias. DE = deslocamento do epitélio. Plnc = proliferação de ionócitos. PCM = proliferação de células da mucosa. Os dados são expressos como média ± erro padrão (n = 8 peixes por tratamento). Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos após o transporte (p < 0,05). * Indica diferença significativa entre o tratamento antes do transporte e os tratamentos após o transporte (p < 0,05).

4.3 Frequência Ventilatória

Os juvenis sedados com OELS (10 e 15 mg L⁻¹) apresentaram FV significativamente inferior aos demais tratamentos (p < 0,023) (exceto entre 10 mg L⁻¹ de OELS e 15 mg L⁻¹ de OECC em 8 h). Nos indivíduos que foram sedados com 15 mg L⁻¹ de OELS, a FV foi significativamente superior no tempo 0 h em comparação com os tempos entre 5 e 8 h (p < 0,018). Adicionalmente para este mesmo tratamento, nos tempos 0,5 e 1 h a FV foi significativamente superior do que o tempo 8 h (p < 0,001). Para os juvenis expostos a 10 mg L⁻¹ de OECC, a FV foi significativamente superior nos tempos 0 e 0,5 h em comparação com os tempos entre 3 e 8 h (p < 0,028). Para os peixes submetidos a 15 mg L⁻¹ de OECC, a FV foi significativamente superior no tempo 0 do que nos tempos entre 2 e 8 h (p < 0,046) e no tempo 0,5 h do que nos tempos entre 5 e 8 h (p < 0,004). Em adição para este mesmo tratamento, no tempo 1 h a FV foi significativamente superior do que no tempo 8 h (p = 0,003) (Tabela 5).

Tabela 5. Frequência ventilatória em juvenis II de acará bandeira (*Pterophyllum scalare*) expostos a diferentes concentrações dos óleos essenciais de *Lippia sidoides* (OELS) e *Cymbopogon citratus* (OECC) em diferentes tempos.

Tempo (h)	Tratamentos				
	Controle	OELS 10 mg L ⁻¹	OELS 15 mg L ⁻¹	OECC 10 mg L ⁻¹	OECC 15 mg L ⁻¹
0	255,88± 13,80 ^{Aa}	164,25 ± 5,20 ^{Ba}	201,12± 12,82 ^{Ba}	276,25± 6,42 ^{Aa}	289,50± 10,06 ^{Aa}
0,5	276,63± 10,71 ^{Aa}	158,50± 5,20 ^{Ba}	194,33± 9,25 ^{Bab}	272,88± 6,80 ^{Aa}	279,38± 6,61 ^{Aab}
1	268,63± 9,70 ^{Aa}	143,25± 4,80 ^{Ba}	185,00± 6,20 ^{Bab}	250,00± 5,50 ^{Aab}	254,88± 6,80 ^{Aabc}
2	260,50± 8,17 ^{Aa}	156,00± 4,90 ^{Ba}	166,50± 6,90 ^{Babc}	234,14± 4,31 ^{Aab}	241,86± 5,18 ^{Abcd}
3	243,25± 9,30 ^{Aa}	147,38± 5,01 ^{Ba}	160,38± 8,32 ^{Babc}	226,25± 7,52 ^{Ab}	242,71± 11,73 ^{Abcd}
4	246,75± 9,12 ^{Aa}	157,25± 4,04 ^{Ba}	157,50± 7,21 ^{Babc}	215,50± 8,02 ^{Ab}	238,71± 9,45 ^{Abcd}
5	250,63± 11,00 ^{Aa}	150,50± 4,90 ^{Ba}	145,75± 5,70 ^{Bbc}	218,30± 11,44 ^{Ab}	215,83± 10,41 ^{Acd}
6	238,00± 11,10 ^{Aa}	151,38± 8,40 ^{Ba}	153,12± 6,64 ^{Bbc}	210,38± 7,97 ^{Ab}	223,33± 5,61 ^{Acd}
7	258,20± 7,30 ^{Aa}	157,00± 5,20 ^{Ba}	149,00± 6,91 ^{Bbc}	210,25± 5,30 ^{Ab}	207,83± 8,33 ^{Acd}
8	240,20± 12,00 ^{Aa}	152,00± 3,90 ^{BCa}	123,25± 12,20 ^{Cc}	213,38± 5,61 ^{Ab}	198,00± 12,18 ^{ABd}

Dados são expressos como média ± erro padrão (n = 8 peixes por tratamento). Letras maiúsculas na mesma linha indicam diferenças significativas entre diferentes tratamentos em um mesmo tempo (p < 0,05). Letras minúsculas na mesma coluna indicam diferenças significativas entre diferentes tempos em um mesmo tratamento (p < 0,05).

5. DISCUSSÃO

5.1 Indução anestésica

Um dos fatores importantes para a utilização de uma anestésico é que este anestesia o animal sem colocar em risco sua sobrevivência após a anestesia. No presente estudo, não foi observado mortalidade nos peixes submetidos aos tratamentos com óleos essenciais de *L. sidoides* e *C. citratus*. Similarmente isso foi evidenciado por Mitjana et al., (2014) e Oliveira et al., (2019), ao testar o eugenol em cará-bandeira, corroborando o apresentado no presente estudo.

O corrente estudo evidenciou que existe influência do estágio de desenvolvimento do acará-bandeira na resposta da ação anestésica, o que demonstra que a fase de vida pode influenciar a resposta do animal frente a um anestésico. Os indivíduos menores (juvenil I) foram sedados com 10 mg L^{-1} para ambos os óleos essenciais, que diferiu da concentração de 25 mg L^{-1} necessária para causar sedação nos indivíduos maiores (juvenil II) com os mesmos óleos essenciais.

A superfície branquial dos peixes de menor porte é maior que em peixes de grande porte, dessa forma a absorção do anestésico é mais eficiente em peixes menores (JAVAHERY et al., 2012; HOSEINI et al., 2013; CHAMBEL et al., 2015) o que justificaria os resultados apresentados nesse trabalho. O tamanho dos indivíduos também foi determinante para a definição da melhor concentração anestésica. As concentrações de ambos os óleos essenciais que apresentaram os melhores resultados (baseado nos tempos de anestesia e recuperação anestésica) para juvenil I e II foram de 200 e 250 mg L^{-1} , respectivamente. Em adição, OELS e OECC podem ser utilizados como anestésicos em biometrias e outros manuseios rápidos nestes juvenis quando seguidos de um período de recuperação em água livre de anestésico.

Em geral, quanto maior a concentração utilizada, menor deve ser o tempo para sedação e anestesia (PARK et al., 2008). Isto foi verificado no presente estudo, pois quanto maior foi a concentração utilizada dos óleos essenciais, menores foram os tempos de anestesia verificados para acará-bandeira. Estudos prévios informaram que o tempo ideal para anestesia deve ser próximo ou inferior a 3 min, seguido de tempos entre 5 e 10 min como os períodos máximos para recuperação anestésica (GILDERHUS e MARKING, 1987; SMALL, 2003; ROSS e ROSS, 2008). No presente estudo, as concentrações recomendadas de OELS atingiram tempo de anestesia em torno de 2 min, abaixo do recomendado pelos autores previamente citados. Já as concentrações recomendadas para OECC tiveram tempo de anestesia entre 3 e 4 min, próximo aos tempos sugeridos pelos referidos autores. Em juvenis de jundiá expostos a diferentes concentrações do óleo essencial de *A. triphylla*, o qual tem como componente majoritário o citral, a concentração recomendada de $200 \mu\text{L L}^{-1}$ foi a mais eficaz com um tempo de indução anestésica de cerca de 6,5 min (PARODI et al., 2014), superior ao tempo de anestesia encontrado no presente estudo. Similarmente ao corrente estudo, o óleo essencial de *L. alba* foi eficaz para indução anestésica de

tambacu ($200 \mu\text{L L}^{-1}$) em 1,5 min (SENA et al., 2016) e cavalo marinho ($150 \mu\text{L L}^{-1}$) em 4 min (CUNHA et al., 2011).

No corrente estudo foi possível constatar que para juvenis I e II de acará-bandeira o aumento da concentração anestésica promoveu diminuição nos tempos de sedação e anestesia. De acordo com Ross e Ross (2008), há uma associação inversa entre a taxa metabólica e o peso corpóreo, assim peixes maiores e menos ativos demandarão mais exposição e maiores concentrações. Entretanto, concentrações acima de 250 mg L^{-1} de ambos os óleos essenciais devem ser evitadas, pois a utilização de uma quantidade excessiva de um anestésico poderia afetar o bem-estar ou até mesmo causar a morte dos peixes (SUMMERFELT e SMITH, 1990; PARK et al., 2008). Além disso, uma concentração de um anestésico acima da requerida para o indivíduo representaria desperdício de óleo essencial e despesas desnecessárias (TEIXEIRA et al., 2017).

O efeito anestésico de OELS e OECC devem estar atribuídos a seus compostos químicos majoritários (podendo atuar em conjunto com os demais compostos presentes), os quais são carvacrol e α -citral, respectivamente. Estudos realizados com óleo essencial de *L. alba* e OECC cujo componente majoritário é o citral, em mamíferos demonstraram sua ação ansiolítica e sedativa através da inibição do mecanismo GABA_A (ácido gama-aminobutírico), importante neurotransmissor do encéfalo (COSTA et al., 2011; HELDWEIN et al., 2012; WANG et al., 2018). Assim, possivelmente, OELS e OECC podem ter agido como inibidores no receptor GABA_A , desencadeando efeito anestésico para os juvenis de acará-bandeira. Em adição, a avaliação de propriedades ansiolíticas de OECC em peixe-zebra indicou que os receptores GABA_A estão possivelmente relacionados ao mecanismo de ação dos seus constituintes (HACKE et al., 2020). Do mesmo modo, carvacrol, componente majoritários no OELS, exerceu atividade ansiolítica e antidepressiva, além de minimizar a excitabilidade no sistema nervoso periférico em camundongos. Tal ação relaciona-se aos efeitos que estes componentes exercem no sistema nervoso central por meio de neurônios GABA_A érgicos através do receptor GABA_A , onde a ativação destes canais promove a depressão do SNC, estando envolvido no mecanismo de ação sedativa e anestésica em peixes (MELLO et al., 2010; GONÇALVES et al., 2010; BIANCHINI et al., 2017).

5.2 Transporte de juvenis II

Uma concentração mínima anestésica de um óleo essencial pode atuar como um sedativo capaz de reduzir a atividade dos peixes durante o transporte (SENA et al., 2016), uma vez que óleos essenciais adicionados à água de transporte podem reduzir a taxa metabólica, bem como a reação a estímulos externos dos peixes (COOKE et al., 2004). Neste sentido, o uso de substâncias anestésicas tende a minimizar o estresse, demandando um menor gasto energético e diminuindo a produção de compostos nitrogenados tóxicos na água e, conseqüentemente, contribuindo com o bem-estar dos peixes (PIRHONEN e SCHRECK, 2003) durante o transporte.

Em adição, parâmetros de qualidade de água não foram afetados durante o transporte de juvenis II de acará-bandeira por 8 h. A qualidade de água é um fator que comumente interfere nos processos fisiológicos dos animais aquáticos durante o transporte, com conseqüente prejuízo a saúde dos peixes (LIMMA-NETTO et al., 2018; KIZAK et al., 2018), o que não ocorreu neste estudo.

No presente estudo, a concentração efetiva de ambos os óleos essenciais para o transporte dos juvenis II de acará-bandeira foi de 10 e 15 mg L⁻¹, pois nestas concentrações os peixes chegaram apenas ao estágio de sedação, sem riscos de anestesia. Estudos prévios com outros óleos essenciais encontraram resultados similares ao do corrente estudo. O uso de 15,9 mg L⁻¹ de eugenol foi eficiente para induzir a sedação em acará-bandeira durante transporte de 7 h (OLIVEIRA et al., 2019a). Concentrações entre 10 e 20 mg L⁻¹ de óleo essencial de *L. alba* foram indicados para o transporte de jundiá, cavalo marinho e tambacu (CUNHA et al., 2010; 2011; SENA et al., 2016). Diferentemente, as concentrações indicadas para o transporte de tambaqui e tilápia do Nilo por 8 h com óleos essenciais de *Curcuma longa* e *Aloysia triphylla* foram de 40 e 30 mg L⁻¹, respectivamente (SACCOL et al., 2016; TEIXEIRA et al., 2018).

Em situações de estresse decorrentes do transporte, o peixe tende a ter um gasto maior de energia visando à manutenção da homeostase fisiológica, a qual pode ser alterada por fatores externos (TEIXEIRA et al., 2017; 2018), como calor e movimentação do veículo. Portanto, o aumento dos níveis glicose sanguínea

verificado nos tratamentos com óleo essencial adicionado água (exceto 10 mg L⁻¹ de OECC) pode ter sido desencadeado como uma resposta fisiológica secundária ao estresse (PANKHURST, 2011). A elevação em alguns parâmetros sanguíneos ocorre imediatamente após o sistema nervoso receber um estímulo que ativar os eixos simpático-cromafins e hipotálamo-hipófise-inter-renal. Desta forma, cortisol e catecolaminas que são liberados na corrente sanguínea, darão início a processos metabólicos para geração de energia extra, permitindo que os peixes se ajustem às novas condições (BALDISSEROTTO, 2018; VENTURA et al., 2019). Assim, o nível elevado de glicose pode atuar como uma reserva de energia para as demandas metabólicas que ocorrerão após o término do transporte, disponibilizando o glicogênio muscular a outras funções fisiológicas e mantendo a homeostase corporal (OLIVEIRA et al., 2019a,b). Entretanto uma elevação nos níveis de glicose não corresponde diretamente a uma elevação de níveis de cortisol sanguíneo. Isto foi verificado em estudos prévios, onde tambacu transportados com *L. alba* 10 µL L⁻¹ (SENA et al., 2016) e tilápia do Nilo transportados com *L. alba* 10 µL L⁻¹ (HOHLENWERGER et al., 2017) e *A. triphylla* 20 µL L⁻¹ (TEIXEIRA et al., 2018), apresentaram elevação dos níveis de glicose, mas não de cortisol sanguíneo após transporte de 8 h em comparação ao grupo não transportado.

O glicogênio é o principal substrato energético armazenado nos tecidos hepáticos e muscular. Entretanto, em condições adversas, o glicogênio é degradado (glicogenólise) e liberado na forma de glicose energética de modo a suprir o aumento da demanda metabólica (BECKER et al., 2015; BALDISSEROTTO, 2018). No corrente estudo, os níveis de glicogênio muscular dos peixes transportados com adição de óleo essencial na água foram menores em relação aos demais peixes transportados sem uso de OELS ou OECC. Entretanto, em condições adversas, o glicogênio é degradado (glicogenólise) e liberado na forma de glicose energética de modo a suprir o aumento da demanda metabólica (PERRY e CAPALDO, 2011) para permitir um ajustamento na homeostase fisiológica nos peixes.

Segundo Balasch e Tort (2019), tais eixos ativam respostas rápidas ao estresse, aumentando a frequência ventilatória e cardíaca, conferindo maior volume sanguíneo para as brânquias e o músculo e, conseqüentemente, fornecendo suprimento adequado de energia aos tecidos críticos. À medida que o tempo de exposição ao óleo essencial se prolonga, os batimentos operculares tendem a diminuir nos peixes

(HOHLENWERGER et al., 2017). Portanto, uma redução na FV reduziria os impactos de um possível estresse metabólico nos peixes. Similarmente, o uso de óleo essencial de *L. alba* como sedativo em tilápia do Nilo (10 e 20 $\mu\text{L L}^{-1}$) (HOHLENWERGER et al., 2017) e jundiá (5 e 10 $\mu\text{L L}^{-1}$) (BECKER et al., 2018) e óleo essencial de *A. triphylla* em tilápia do Nilo (20 e 30 $\mu\text{L L}^{-1}$) (TEIXEIRA et al., 2018) também reduziram a FV. Em adição, o presente estudo identificou que o OELS foi mais eficiente do que o OECC na redução dos movimentos operculares dos juvenis II de acará-bandeira.

As brânquias estão em contato direto com o meio ambiente, sendo o principal alvo de elementos externos presentes na água (BALDISSEROTTO, 2018). Quando os peixes são submetidos a condições estressantes de manuseio ou transporte, suas brânquias tendem a sofrer modificações para se ajustarem ao ambiente e às condições a elas impostas, o que pode garantir a manutenção de suas funções (BRANDÃO et al., 2021). Em nosso estudo, apenas os grupos transportados sem adição de óleo essencial ou com adição de 15 mg L^{-1} OELS não tiveram aumento da densidade volumétrica do tecido total branquial. O que poderia justificar tal resultado é que os peixes podem ajustar a área da superfície branquial, aumentando o comprimento das lamelas e reduzindo a barreira de difusão, embora esse aumento possa demandar maior gasto energético (BALDISSEROTTO, 2018).

Os peixes expostos a 10 mg L^{-1} de OELS durante o transporte apresentaram menor densidade volumétrica para lamela secundária, local de trocas gasosas e iônicas nas brânquias (FIEDLER 2020), desencadeando uma menor demanda de oxigênio e troca iônica durante o transporte. Adicionalmente, a redução na densidade volumétrica no epitélio do filamento fornece uma redução na distância entre os meios externo e interno, o que deve aumentar a superfície de contato e facilitar a difusão dos gases respiratórios (MALLATT, 1985). No nosso estudo, para os peixes que sofreram transporte, esta redução no volume do epitélio do filamento foi verificada apenas para o tratamento 15 mg L^{-1} de OELS, embora nenhum tratamento diferiu do grupo antes do transporte para esta variável.

Mudanças nas estruturas teciduais podem indicar um ajuste dos peixes para proteção de suas funções fisiológicas (BARBIERI e BONDIOLI, 2015; BRANDÃO et al., 2021). No presente estudo, as lesões de estágio III apresentaram HAI mais elevados do que os estágios I e II. Similarmente, Soares et al. (2017) ao testar banhos terapêuticos com OELS (10 e 20 mg L^{-1}) em tambaqui relataram que o HAI variou de lesões graves a irreparáveis para os estágios II e III. No corrente estudo, as alterações

de estágio II e III foram visualizadas de forma dispersa nas brânquias, sem predominância em alguma área específica, indicando que tais alterações não desencadearam prejuízos fisiológicos graves aos peixes (POLEKISIC e MITROVIC-TUTUNDZIC, 1994). Em adição, essas lesões foram menos severas nos peixes pertencentes ao tratamento 10 mg L⁻¹ de OELS.

Em um contexto geral, as lesões histológicas analisadas em nosso estudo demonstraram que o tecido branquial pode sofrer mudanças e ajustes de acordo com as condições de transporte. Peixes transportados com 10 mg L⁻¹ de OELS ou OECC apresentaram maior volume de fusão nas lamelas secundárias, bem como maior volume de deslocamento de epitélio, demonstrando assim que nestas concentrações a difusão dos gases respiratórios destes animais é menor. Similarmente, isto foi verificado por Brandão et al. (2021) ao demonstrar o potencial anestésico do OELS (90 mg L⁻¹) em juvenis de tambaqui.

Na presença de substâncias químicas estranhas, as brânquias podem exibir modificações que são consideradas respostas de defesa (e.g., proliferação e deslocamento de células do epitélio, fusão de lamelas secundárias), que podem aumentar a distância entre o meio externo e o meio interno (Monteiro et al., 2008). No momento em que os peixes são expostos a alterações em seu ambiente, ajustes fisiológicos podem ocorrer nas brânquias para manter a homeostase de funções importantes, tais como: osmorregulação, balanço ácido-básico, excreção de compostos nitrogenados e trocas gasosas (BARBIERI e BONDIOLI, 2015; BRANDÃO et al., 2020). No presente estudo, onde peixes expostos a 10 mg L⁻¹ de OELS ou OECC durante o transporte apresentaram maiores volumes para fusão e deslocamento do epitélio, o que pode indicar que estas alterações foram necessárias para eles manterem o funcionamento adequado das brânquias.

A proliferação de células epiteliais que revestem a superfície branquial é uma das respostas mais importantes às alterações ambientais (WOLF et al., 2015). Neste sentido, tal proliferação celular poderá atuar na proteção dos canais vasculares lamelares, considerados mais frágeis aos danos externos, entretanto também pode desencadear o aumento da distância de difusão do O₂ entre as células epiteliais respiratórias e os eritrócitos, prejudicando as funções respiratórias (OLIVEIRA et al., 2019a). Além disso, as lesões por edema podem ser uma resposta devido a uma ação tóxica (MONTEIRO et al., 2008), sendo tal parâmetro considerado um biomarcador de toxicidade aguda (PEREIRA et al., 2013). Contudo, no corrente estudo apenas os

peixes submetidos ao OECC durante o transporte apresentaram número de edemas maior do que os animais antes do transporte.

Por fim, no presente estudo, embora fibrose seja uma lesão grave, outras alterações graves como hemorragia, aneurisma e necrose (POLEKISIC e MITROVIC-TUTUNDZIC, 1994) não apresentaram diferenças entre os juvenis transportados e aqueles antes do transporte. Isto demonstra que os animais deste estudo possuem uma potencial capacidade regenerativa dos tecidos branquiais. Tais mecanismos regenerativos e informações referente a danos e regeneração branquial em peixes expostos a anestésicos ainda precisam ser melhor elucidados (KUMARI et al., 2018; MIERZWA et al., 2020; CADIZ e JONZ, 2020). Portanto, a escolha de um óleo essencial com capacidade sedativa para o transporte de peixes deve privilegiar uma concentração que minimize os danos branquiais, ou seja, que não provoque lesões irreversíveis às brânquias. Assim, em nosso estudo, o tratamento que atendeu estas premissas foi 10 mg EOLS L⁻¹, podendo ser utilizado no transporte de juvenis II de acará-bandeira por até 8 h, pois não causou danos irreparáveis de estágio III às brânquias.

6. CONCLUSÃO

A fase de desenvolvimento dos peixes pode influenciar a ação de um anestésico. Neste estudo, os maiores juvenis de acará-bandeira necessitaram de uma maior concentração dos óleos essenciais para serem anestesiados. Para manuseios rápidos, 200 e 250 mg L⁻¹ de ambos os óleos essenciais são indicados para juvenil I e II, respectivamente. Para o transporte por até 8 h de juvenis II, ambos óleos essenciais favoreceram um aumento nos níveis energéticos com mobilização de glicogênio muscular. Este estudo verificou que para este transporte pode ser usado 10 mg L⁻¹ de OELS, pois apesar deste tratamento ter elevado a glicose sanguínea, ele diminuiu a FV, não afetou a qualidade da água e não provocou danos irreversíveis ao tecido branquial.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os óleos essenciais testados neste estudo demonstram ser eficazes na anestesia de juvenis I e II de acará bandeira, assim como no transporte de juvenis II sem provocar danos graves que provocasse a morte destes animais por transporte de até 8 h. Apesar disso, é preciso ressaltar que para outras espécies de peixes podem ocorrer resultados diferentes, pois a reação ao anestésico pode variar não só de acordo com a espécie, mas também de acordo com o tamanho, a fase de vida e a concentração utilizada.

Portanto, ao escolher um óleo essencial para uso na aquicultura, é preciso definições de dosagem e elucidação do mecanismo de ação de seus componentes nas atividades biológicas, como por exemplo, atividades anestésicas e redutoras de estresse. Contudo, ainda são poucos os estudos já realizados, principalmente para OELS, no manejo e transporte de peixes. Assim, mais estudos com óleos essenciais como anestésicos poderão viabilizar a obtenção de produtos para uso na aquicultura em substituição aos produtos sintéticos já disponíveis. O uso de óleos essenciais não só poderá reduzir os custos na produção, como também contribuir para uma atividade sustentável por se tratar de um produto de origem natural são considerados menos nocivo ao meio ambiente.

REFERÊNCIAS

AL-SAGHEER, A. A., MAHMOUD, H. K., REDA, F. M., MAHGOUB, S. A., AYYAT, M. S. Supplementation of diets for *Oreochromis niloticus* with essential oil extracts from lemongrass (*Cymbopogon citratus*) and geranium (*Pelargonium graveolens*) and effects on growth, intestinal microbiota, antioxidant and immune activities. **Aquaculture Nutrition**, v. 24, p. 1006–1014, 2018.
<https://doi.org/10.1111/anu.12637>.

ADAMANTE, W. B., NUÑER, A. P. O., BARCELLOS, L. J. G., SOSO, A. B., FINCO, J. A. Stress in *Salminus brasiliensis* fingerlings due to different densities and times of

transportation. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 60, p. 755–761, 2008. <https://doi.org/10.1590/S0102-09352008000300034>.

ADAMS, R. P. Identification of essential oil component by chromatography/mass spectroscopy. Allured Publishing Corporation. Carol Stream, Illinois, 2009.

AYDIN, B., BARBAS, L. A. L. Sedative and anesthetic properties of essential oils and their active compounds in fish: A review. **Aquaculture**, v. 520, p. 734999, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.734999>.

BALDISSEROTTO, B. Fisiologia aplicada à piscicultura. Santa Maria, RS. Ed.UFSM. 3ª ed, p. 350, 2018.

BARBIERI, E., BONDIOLI, A. C. V. Acute toxicity of ammonia in Pacu fish (*Piaractus mesopotamicus*, Holmberg, 1887) at different temperatures levels. **Aquaculture Research**, v. 46, p. 565–571, 2015. <https://doi.org/10.1111/are.12203>.

BAKKALI, F., AVERBECK, S., AVERBECK, D., IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils - A review. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, p. 446–475, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2007.09.106>.

BARCELLOS, L. J. G., WOHL, V. M., WARSEMANN, G. F., QUEVEDO, R. M., ITZES, I., KRIEGER, M. H. Plasma levels of cortisol and glucose in response to capture and tank transference in *Rhamdia quelen* (Quoi & Gaimard), a South American catfish. **Aquaculture Research**, v. 32, p. 121–123, 2001. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2109.2001.00539.x>.

BALASCH, J. C., TORT, L. Netting the stress responses in fish. **Frontiers in Endocrinology**, v. 10, p. 62, 2019. <https://doi.org/10.3389/fendo.2019.00062>.

BECKER, A. G., PARODI, T. V., HELDWEIN, C. G., ZEPPENFELD, C., HEINZMANN, B. M., BALDISSEROTTO, B. Transportation of silver catfish, *Rhamdia quelen*, in water with eugenol and the essential oil of *Lippia alba*. **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 38, p. 789–796, 2012. <https://doi.org/10.1007/s10695-011-9562-4>.

BECKER, A. J., FOGLIARINI, C. O., SOUZA, C. F., BECKER, A. G., MOURÃO, R. H. V., SILVA, L. V. F., BALDISSEROTTO, B. Ventilatory frequency and anesthetic efficacy in silver catfish, *Rhamdia quelen*: A comparative approach between different essential oils. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 47, p. e20170185, 2018. <https://doi.org/10.1590/rbz4720170185>.

BERKA, R. The transport of live fish: A review. Rome: **Food and Agriculture Organization of the United Nations**, v. 48, 1986. Disponível em: www.nrcs.usda.gov/Internet/FSE_DOCUMENTS/nrcs144p2_044511.

BIANCHINI, A. E. GARLET, Q. I., DA CUNHA, J. A., BANDEIRA JUNIOR, G., BRUSQUE, I. C. M., SALBEGO, J., BALDISSEROTTO, B. Monoterpenoids (thymol, carvacrol and S-(+)-linalool) with anesthetic activity in silver catfish (*Rhamdia quelen*): evaluation of acetylcholinesterase and GABAergic activity. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 50, p. e6346, 2017. <https://doi.org/10.1590/1414-431X20176346>.

BIDINOTTO, P. M., MORAES, G., SOUZA, R. D. S. Hepatic glycogen and glucose in eight tropical freshwater teleost fish: A procedure for field determinations of micro samples. **Boletim técnico do CEPTA**, v. 10, p. 53–60, 1997.

BIONDO, M. V., BURKI, R. P. Monitoring the trade in marine ornamental fishes through the European trade control and expert system TRACES: Challenges and possibilities. **Marine Policy**, v. 108, p. 103620, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.marpol.2019.103620>.

BOIJINK, C. L., MACIEL, P. O., TAVARES-DIAS, M., IWASHITA, M. K. P., MORAIS, M. S., HIDE, D. M. V., FUJIMOTO, R. Y. Anesthesia by sprinkling method in the gills of tambaqui *Colossoma macropomum* does not influence intensity and morphology of monogeneans. **Brazilian Journal of Biology**, v. 77, p. 367–371, 2017. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.15915>.

BOLASINA, S. N., DE AZEVEDO, A., PETRY, A. C. Comparative efficacy of benzocaine, tricaine methanesulfonate and eugenol as anesthetic agents in the guppy *Poecilia vivipara*. **Aquaculture Reports**, v. 6, p. 56–60, 2017.
<https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2017.04.002>.

BRANDÃO, F., FARIAS, C. F. S., DE MELO SOUZA, D. C., DE OLIVEIRA, M. I. B., DE MATOS, L. V., MAJOLO, C., CHAGAS, E. C. Anesthetic potential of the essential oils of *Aloysia triphylla*, *Lippia sidoides* and *Mentha piperita* for *Colossoma macropomum*. **Aquaculture**, v. 534, p. 736275, 2021.
<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.736275>.

CACHO, M. S. R. F., YAMAMOTO, M. E., CHELLAPPA, S. Comportamento reprodutivo do acará-bandeira, *Pterophyllum scalare* (Osteichthyes, Cichlidae). **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 16, p. 653–664, 1999.
<https://doi.org/10.1590/S0101-81751999000300006>.

CADIZ, LAURA; JONZ, MICHAEL G. A comparative perspective on lung and gill regeneration. **Journal of Experimental Biology**, v. 223, n. 19, 2020.
<https://doi.org/10.1242/jeb.226076>.

CHAMBEL, J.R., PINHO, R., SOUSA, R., FERREIRA, T., BAPTISTA, T., SEVERIANO, V., MENDES, S., PEDROSA, R. The efficacy of MS-222 as anaesthetic agent in four freshwater aquarium fish species. **Aquaculture Research**, v. 46 p. 1582-1589, 2015. <https://doi.org/10.1111/are.12308>.

CHAPMAN, F. A., FITZ-COY, S. A., THUNBERG, E. M., ADAMS, C. M. United States of America trade in ornamental fish. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 28, p. 1–10, 1997. <https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.1997.tb00955.x>.

COSTA, C. R. A., KOHN, D. O., DE LIMA, V. M., GARGANO, A. C., FLÓRIO, J. C., COSTA, M. The GABAergic system contributes to the anxiolytic-like effect of essential oil from *Cymbopogon citratus* (lemongrass). **Journal of ethnopharmacology**, v. 137, p. 828–836, 2011.
<https://doi.org/10.1016/j.jep.2011.07.003>.

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**, v. 239, p. 509–529, 2004.

<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2004.06.028>.

CUNHA, M. A., BARROS, F. M., GARCIA, L., VEECK, A. P. L., HEINZMANN, B. M., LORO, V. L., EMANUELLI, T., BALDISSEROTTO, B. Essential oil of *Lippia alba*: A new anesthetic for silver catfish, *Rhamdia quelen*. **Aquaculture**, v. 306, p. 403–406, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2010.06.014>.

CUNHA, M. A., SILVA, B.F., DELUNARDO, F.A. C., BENOVI, S. C., GOMES, L. C., HEINZMANN, B. M., BALDISSEROTTO, B. Anesthetic induction and recovery of *Hippocampus reidi* exposed to the essential oil of *Lippia alba*. **Neotropical Ichthyology**, v. 9, p. 683–688, 2011. <https://doi.org/10.1590/S1679-62252011000300022>.

DEVI, R. C., SIM, S.M., ISMAIL, R. Spasmolytic effect of citral and extracts of *Cymbopogon citratus* on isolated *rabbit ileum*. **J. Smooth Muscle Res**, v. 47, p. 143–156, 2011. <https://doi.org/10.1540/jsmr.47.143>.

DE ARAÚJO, J. G., DOS SANTOS, M. A. S., REBELLO, F. K., ISAAC, V. J. Cadeia comercial de peixes ornamentais do Rio Xingu, Pará, Brasil. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 43, p. 297–307, 2018. <https://doi.org/10.20950/1678-2305.2017v43n2p297>.

DE ARAÚJO, J. G., DOS SANTOS, M. A. S., REBELLO, F. K., PRANG, G., DE ALMEIDA, M. C. ISAAC, V. J. Economic analysis of the threats posed to the harvesting of ornamental fish by the operation of the Belo Monte hydroelectric dam in Northern Brazil. **Fisheries Research**, v. 225, p. 105483, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.fishres.2019.105483>.

DOS SANTOS, C. P., DE OLIVEIRA, T. C., PINTO, J. A. O., FONTES, S. S., CRUZ, E. M. O., DE FÁTIMA ARRIGONI-BLANK, M., BLANK, A. F. Chemical diversity and

influence of plant age on the essential oil from *Lippia sidoides* Cham. germplasm. **Industrial Crops and Products**, v. 76, p. 416–421, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.07.017>.

DOS SANTOS, E. S., DA SILVA, T. G., DE VASCONCELOS FILHO, J. I. F., DE FREITAS, M. S. A., DE FREITAS, R. M., ARAÚJO, I. M. Clove oil in different concentrations as ananesthetic for guppy *Poecilia reticulata*. **Acta of Fisheries and Aquatic Resources**, v. 5, p. 140–146, 2017. <https://doi.org/10.2312/ActaFish.2017.5.3.140-146>.

EKPENYONG, C. E., AKPAN, E., NYOH, A. Ethnopharmacology, phytochemistry, and biological activities of *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf extracts. **Chinese Journal of Natural Medicines**, v. 13, p. 321–337, 2015. [https://doi.org/10.1016/S1875-5364\(15\)30023-6](https://doi.org/10.1016/S1875-5364(15)30023-6).

FAO, GLOBEFISH - Informação e Análise sobre o Comércio Mundial de Peixe. 2017. Disponível em: www.fao.org/in-action/globefish/news-events/details-news/en/c/469648/.

FERNANDES, C., FONTAÍNHAS-FERNANDES, A., MONTEIRO, S. M., SALGADO, M. A. Histopathological gill changes in wild leaping grey mullet (*Liza saliens*) from the Esmoriz-Paramos coastal lagoon, Portugal. **Environmental Toxicology: An International Journal**, v. 22, p. 443-448, 2007. <https://doi.org/10.1002/tox.20269>.

FERNÁNDEZ-PARRA, R., DONNELLY, T. M., PIGNON, C., NOIRAUT, A., ZILBERSTEIN, L. Immersion anesthesia with alfaxalone in a goldfish (*Carassius auratus*). **Journal of Exotic Pet Medicine**, v. 26, p. 276–282, 2017. <https://doi.org/10.1053/j.jepm.2017.08.003>.

FIEDLER, S., WÜNNEMANN, H., HOFMANN, I., THEOBALT, N., FEUCHTINGER, A., WALCH, A., BLUTKE, A. A practical guide to unbiased quantitative morphological analyses of the gills of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in ecotoxicological studies. **Plos one**, v. 15, p. 0243462, 2020. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0243462>.

GAYATHRI, K., JAYACHANDRAN, K., VASANTHI, H. R., RAJAMANICKAM, G. V. Cardioprotective effect of lemon grass as evidenced by biochemical and histopathological changes in experimentally induced cardiotoxicity. **Human & Experimental Toxicology**, v. 30, p. 1073–1082, 2010. <https://doi.org/10.1177/0960327110386391>.

GILDERHUS, P. A., MARKINKG, L. L. Comparative efficacy of 16 anesthetics chemicals on rainbow trout. **North American Journal of Fisheries Management**, v. 7, p. 288–292, 1987. [https://doi:10.1577/1548-8659\(1987\)7<288:CEOACO>2.0.CO;2](https://doi:10.1577/1548-8659(1987)7<288:CEOACO>2.0.CO;2).

GOMES, L. C., ROUBACH, R., ARAUJO-LIMA, C. A., CHIPPARI-GOMES, A. R., LOPES, N. P., URBINATI, E. C. Effect of fish density during transportation on stress and mortality of juvenile tambaqui *Colossoma macropomum*. **Journal of the World Aquaculture society**, v. 34, p. 76–84, 2003. <https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.2003.tb00041.x>.

GONÇALVES, J. C. R., ARON DE MIRANDA, H. A., DE ARAÚJO, A. E. V., CRUZ, J. S., ARAÚJO, D. A. M. Distinct effects of carvone analogues on the isolated nerve of rats. **European Journal of pharmacology**, v. 645, p. 108–112, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2010.07.027>.

GONÇALVES JÚNIOR, L. P., PEREIRA, S. L., MATIELO, M. D., MENDONÇA, P. P. Efeito da densidade de estocagem no desenvolvimento inicial do acará-bandeira (*Pterophyllum scalare*). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 65, p. 1176–1182, 2013. <https://doi.org/10.1590/S0102-09352013000400033>.

HACKE, A. C. M., MIYOSHI, E., MARQUES, J. A., PEREIRA, R. P. Anxiolytic properties of *Cymbopogon citratus* (DC.) stapf extract, essential oil and its constituents in zebrafish (*Danio rerio*). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 260, p. 113036, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.113036>.

HASHIMOTO, G. S., DE OLIVEIRA, NETO, F. M., RUIZ, M. L., ACCHILE, M., CHAGAS, E. C., CHAVES, F. C. M., MARTINS, M. L. Essential oils of *Lippia sidoides* and *Mentha piperita* against monogenean parasites and their influence on the hematology of Nile tilapia. **Aquaculture**, v. 450, p. 182–186, 2016.

<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.07.029>.

HELDWEIN, C. G., SILVA, L. L., RECKZIEGEL, P., BARROS, F. M. C., BÜRGER, M. E., BALDISSEROTTO, B., HEINZMANN, B. M. Participation of the GABAergic system in the anesthetic effect of *Lippia alba* (Mill.) NE Brown essential oil. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 45, p. 436–443, 2012.

<http://dx.doi.org/10.1590/S0100-879X2012007500052>.

HOHLENWERGER, J. C., COPATTI, C. E., SENA, A. C., COUTO, R. D., BALDISSEROTTO, B., HEINZMANN, B. M., CARON, B. O., SCHMIDT, D. Could the essential oil of *Lippia alba* provide a readily available and cost-effective anaesthetic for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*)? **Marine and Freshwater Behaviour Physiology**, v. 49, p. 119–126, 2016.

<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. Essential oil of *Lippia alba* in the transport of Nile tilapia. **Ciência Rural**, v. 47, p. 20160040, 2017.

<https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20160040>.

HOSEINI, S. M., RAJABIESTERABADI, H., TARKHANI, R. Anaesthetic efficacy of eugenol on iridescent shark, *Pangasius hypophthalmus* (Sauvage, 1878) in different size classes. **Aquaculture Research**, v. 46, p. 1–8, 2013.

<https://doi.org/10.1111/are.12188>.

HOSEINI, S. M., TAHERI MIRGHAED, A., YOUSEFI, M. Application of herbal anaesthetics in aquaculture. **Reviews in Aquaculture**, v. 11, p. 550–564, 2018.

<https://doi.org/10.1111/raq.12245>.

INOUE, L. A. K. A., SANTOS NETO, C. D., MORAES, G. Clove oil as anaesthetic for juveniles of matrinxã *Brycon cephalus* (Gunther, 1869). **Ciência Rural**, v. 33, p. 943–947, 2003. <https://doi.org/10.1590/S0103-84782003000500023>.

JAVAHERY, S., NEKOUBIN, H., MORADLU, A. H. Effect of anaesthesia with clove oil in fish. **Fish physiology and biochemistry**, v. 38, p.1545-1552, 2012. <https://doi.org/10.1007/s10695-012-9682-5>.

KAMPKE, E. H., DE SOUZA BARROSO, M. E., MARQUES, F. M., FRONZA, M., SCHERER, R., LEMOS, M. F., GOMES, L. C. Genotoxic effect of *Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown essential oil on fish (*Oreochromis niloticus*) and mammal (*Mus musculus*). **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 59, p. 163–171, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2018.03.016>.

KEENE, J. L., NOAKES, D. L., MOCCIA, R. D., SOTO, C. G. The efficacy of clove oil as an anaesthetic for Rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). **Aquatic Research**, v. 29, p. 89–101, 1998. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2109.1998.00927.x>.

KIZAK, V., CAN, E., CAN, S. S., ÖZÇIÇEK, E. Anesthetic efficacy of *Cymbopogon citratus* essential oil as a herbal agent in two ornamental fish species. **The Israeli Journal of Aquaculture - Bamidje**, v. 70, p. 1505, 2018. Disponível em: <http://hdl.handle.net/10524/58319>.

KUMARI, P., ABIDI, S., PARWEZ, I. Evaluation of anaesthetizing efficacy of clove oil in *Channa punctatus*. **International Journal of Fisheries and Aquatic Studies**, v. 6, p. 262–266, 2018. Disponível em: www.fisheriesjournal.com/archives/2018/vol6issue5/PartD/6-4-66-817.

LIMMA-NETTO, J. D., SENA, A. C., COPATTI, C. E. 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**, v.42, p. 727–733, 2018. <https://doi.org/10.20950/1678-2305.2016v42n3p727>.

LIMMA-NETTO, J. D., OLIVEIRA, R. S. M., COPATTI, C. E. 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**, v. 89, p. 2971–2974, 2017. <https://doi.org/10.1590/0001-3765201720170001>.

LUNA, L. G. Manual of histologic staining methods of the Armed Forces Institute of Pathology. 3.ed. New York: Mc Graw, 1968, 258p.

MALLATT, J. Fish gill structural changes induced by toxicants and Other irritants: a statistical review. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v. 42, p. 630-648, 1985. <https://doi.org/10.1139/f85-083>.

MANDARIM-DE-LACERDA C. A. Stereological tools in biomedical research. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 75, p. 469–486, 2003. <https://doi.org/10.1590/S0001-37652003000400006>.

MARKING, L. L., MEYER, F. P. Are better anesthetics needed in fisheries. **Fisheries**, v. 10, p. 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).

MELLO, F. H. C., VENÂNCIO, E. T., DE SOUSA, D. P., DE FRANCA FONTELES, M. M., DE VASCONCELOS, S. M. M., VIANA, G. S. B. DE SOUSA, F. C. F. Anxiolytic-like effect of Carvacrol (5-isopropyl-2-methylphenol) in mice: involvement with GABAergic transmission. **Fundamental & clinical pharmacology**, v. 24, p. 437–443, 2010. <https://doi:10.1111/j.1472-8206.2009.00788.x>.

MIERZWA, A. S., NGUYEN, F., XUE, M., JONZ, M. G. Regeneration of the gill filaments and replacement of serotonergic neuroepithelial cells in adult zebrafish (*Danio rerio*). **Respiratory physiology & neurobiology**, v. 274, p. 103366, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.resp.2019.103366>.

MITJANA, O., BONASTRE, C., INSUA, D., FALCETO, M. V., ESTEBAN, J., JOSA, A., ESPINOSA, E. The efficacy and effect of repeated exposure to 2-phenoxyethanol, clove oil and tricaine methanesulphonate as anesthetic agents on

juvenile angelfish (*Pterophyllum scalare*). **Aquaculture**, v.433, p. 491–495, 2014.
<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2014.07.013>.

MONTEIRO, P. C., BRANDÃO, F. R., FARIAS, C. F. S., DE ALEXANDRE SEBASTIÃO, F., MAJOLO, C., DAIRIKI, J. K., CHAGAS, E. C. Dietary supplementation with essential oils of *Lippia sidoides*, *Ocimum gratissimum* and *Zingiber officinale* on the growth and hemato-immunological parameters of *Colossoma macropomum* challenged with *Aeromonas hydrophila*. **Aquaculture Reports**, v. 19, p. 100561, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2020.100561>.

MONTEIRO, S. M., ROCHA, E., FONTAÍNHAS-FERNANDES, A., SOUSA, M. Quantitative histopathology of *Oreochromis niloticus* gills after copper exposure. **Journal of Fish Biology**, v. 73, p. 1376-1392, 2008.
<https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2008.02009.x>.

NIST/EPA/NIH, Mass Spectral Library and Search/analysis Programs, J. Wiley and Sons, Hoboken, 2008.

O'LEARY, N., DENHAM, S.S., SALIMENA, F., MÚLGURA, M.E. Species delimitation in *Lippia* section *Goniostachyum* (Verbenaceae) using the phylogenetic species concept. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 170, p.197–219, 2012.
<https://doi.org/10.1111/j.1095-8339.2012.01291.x>.

OLADEJI, O. S., ADELOWO, F. E., AYODELE, D. T., ODELADE, K. A. Phytochemistry and pharmacological activities of *Cymbopogon citratus*: A review. **Scientific African**, v. 6, p. 00137, 2019.
<https://doi.org/10.1016/j.sciaf.2019.e00137>.

OLIVEIRA, C. P. B., LEMOS, C. H. P., FELIX E SILVA, A., DE SOUZA, S. A., ALBINATI, A. C., LIMA, A. O., COPATTI, C. E. Use of eugenol for the anaesthesia and transportation of freshwater angelfish (*Pterophyllum scalare*). **Aquaculture**, v. 513, p. 734409, 2019a. [10.1016/j.aquaculture.2019.734409](https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734409).

OLIVEIRA, C. P. B., LEMOS, C. H. P., VIDAL, L. V. O., COUTO, R. D., PEREIRA, D. S. P., COPATTI, C. E. Anaesthesia with eugenol in hybrid Amazon catfish (*Pseudoplatystoma reticulatum* × *Leiarius marmoratus*) handling: Biochemical and haematological responses. **Aquaculture**, v. 501, p. 255–259, 2019b.
<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.11.046>.

PANKHURST, N.W. The endocrinology of stress in fish: An environmental perspective. *General Comparative Endocrinology*, v. 170, p. 265–275, 2011.
<https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2010.07.017>.

PARK, M. O., HUR, W. J., IM, S. Y., SEOL, D. W., LEE, J., PARK, I. S. Anaesthetic efficacy and physiological responses to clove oil anaesthetized kelp grouper *Epinephelus bruneus*. **Aquaculture Research**, v. 39, p. 877–884, 2008.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2008.01941.x>.

PARODI, T. V., CUNHA, M. A., BECKER, A. G., ZEPPENFELD, C. C., MARTINS, D. I., KOAKOSKI, G., BARCELLOS, L. G., HEINZMANN, B. M., BALDISSEROTO, B. 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**, v. 40, p.323–334, 2014.
<https://doi.org/10.1007/s10695-013-9845-z>.

PELICICE, F. M., AGOSTINHO, A. A. Perspectives on ornamental fisheries in the upper Paraná River floodplain, Brazil. **Fisheries Research**, v.72, p.109–119, 2005.
<https://doi.org/10.1016/j.fishres.2004.09.005>.

PERRY, S. F., CAPALDO, A. The autonomic nervous system and chromaffin tissue: neuroendocrine regulation of catecholamine secretion in non-mammalian vertebrates. **Autonomic Neuroscience: Basic and Clinical**, v. 165, p. 54–66, 2011.
<https://doi.org/10.1016/j.autneu.2010.04.006>.

PEREIRA, S., PINTO, A. L., CORTES, R., FONTAÍNHAS-FERNANDES, A., COIMBRA, A. M., MONTEIRO, S. M. Gill histopathological and oxidative stress evaluation in native fish captured in Portuguese northwestern rivers. **Ecotoxicology**

and Environmental Safety, v. 90, p. 157-166, 2013.

<https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2012.12.023>.

PIRHONEN, J., SCHRECK, C. B. Effects of anesthesia with MS-222, clove oil and CO₂ on feed intake and plasma cortisol in steelhead trout (*Oncorhynchus mykiss*).

Aquaculture, v. 220, p. 507–514, 2003. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(02\)00624-5](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(02)00624-5).

POLEKSIC, V., MITROVIC-TUTUNDZIC, V. Fish gills as a monitor of sublethal and chronic effects of pollution. In: MÜLLER, R., LLOYD, R. (Eds.). Sublethal and chronic effects of pollutants on freshwater fish. **Oxford: FAO, Fishing News Books**, p. 339–352. 1994.

READMAN, G. D., OWEN, S. F., KNOWLES, T. G., MURRELL, J. C. Species specific anaesthetics for fish anaesthesia and euthanasia. **Scientific reports**, v. 7, p. 1–7, 2017. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-06917-2>.

REZENDE, F. P., PASCOAL, L. M., VIANNA, R. A., LANNA, E. A. T. Sedation of Nile tilapia with essential oils: tea tree, clove, eucalyptus, and mint oils. **Revista Caatinga**, v. 30, p. 479–486, 2017. <https://doi.org/10.1590/1983-21252017v30n223rc>.

RIBEIRO, F. A. S., RODRIGUES, L.A., FERNANDES, J.B.K. Desempenho de juvenis de acará-bandeira (*Pterophyllum scalare*) com diferentes níveis de proteína bruta na dieta. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 33, p. 195–203, 2007. <https://www.pesca.agricultura.sp.gov.br/boletim/index.php/bip/article/view/754>.

ROMANELI, R. D. S., BOARATTI, A. Z., RODRIGUES, A. T., QUEIROZ, D. M. D. A., KHAN, K. U., NASCIMENTO, T. M. T., MANSANO, C. F. M. Efficacy of benzocaine, eugenol, and menthol as anesthetics for freshwater angelfish. **Journal of Aquatic Animal Health**, v. 30, p. 210–216, 2018. <https://doi.org/10.1002/aah.10030>.

ROSS, L. G., ROSS, B. Anaesthetic and sedative techniques for aquatic animals/ Lindsay G. Ross, Barbara Ross, 3ª ed. 2008.
<https://doi.org/10.1002/9781444302264>.

SACCOL, E.M.H., TONI, C., PÊS, T.S., OURIQUE, G.M., GRESSLER, L.T., SILVA, L.V.F., MOURÃO, R.H.V., OLIVEIRA, R.B., BALDISSEROTTO, B., PAVANATO, M.A.. Anaesthetic and antioxidant effects of *Myrcia sylvatica* (G. Mey.) DC. and *Curcuma longa* L. essential oils on tambaqui (*Colossoma macropomum*). *Aquaculture Research*, v. 48, p. 2012–2031, 2016. <https://doi.org/10.1111/are.13034>.
SALAZAR, M.B.S., OCAMPO, D.H. Tasa de crecimiento del pez Angel *Pterophyllum scalare* (Perciformes: *Cichidae*) en condiciones de laboratorio. **Acta Universitaria**, v. 12, p. 28–33, 2002. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=41600203>.

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

SARAIVA, A. G. Q., SARAIVA, G. D., ALBUQUERQUE, R. L., NOGUEIRA, C. E. S., TEIXEIRA, A. M. R., LIMA, L. B. DE SOUSA, F. F. Chemical analysis and vibrational spectroscopy study of essential oils from *Lippia sidoides* and of its major constituent. **Vibrational Spectroscopy**, v. 110, p. 103111, 2020.
<https://doi.org/10.1016/j.vibspec.2020.103111>.

SCHWAIGER, J., WANKE, R., ADAM, S., PAWERT, M., HONNEN, W., TRIEBSKORN, R. The use of histopathological indicators to evaluate contaminant-related stress in fish. **Journal of Aquatic Ecosystem Stress and Recovery**, v. 6, p. 75-86, 1997. <https://doi.org/10.1023/A:1008212000208>.

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. Essential oil from *Lippia alba* has anaesthetic activity and is effective in reducing handling and transport stress in tambacu (*Piaractus mesopotamicus* × *Colossoma macropomum*). **Aquaculture**, v. 465, p. 374–379, 2016.
<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.09.033>.

SECEX - SISTEMA DE ANÁLISE DE INFORMAÇÕES DO COMÉRCIO EXTERIOR
– ALICEWEB. 2019. Disponível em: <http://www.aliceweb.gov.br>.

SILVA, H. N. P. D., SOUZA, R. N. D., SOUSA, E. M. D. O., MOURÃO, R. H. V., BALDISSEROTTO, B., SILVA, L. V. F. D. Citral chemotype of the *Lippia alba* essential oil as an additive in simulated transport with different loading densities of tambaqui juveniles. **Ciência Rural**, v. 50, p. e20190815, 2020.
<https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20190815>.

SILVA-SOUZA, J. G., ANDRADE, D. R., VIDAL JÚNIOR, M. V., FARIAS, W. M., VALÉRIO JÚNIOR, J. F., MENDONÇA, P. P. Eugenol as anesthetic for oscar, *Astronotus ocellatus*. **Archivos de Zootecnia**, v. 64, p. 205–210, 2015,
<https://doi.org/10.21071/az.v64i247.409>.

SMALL, B. C. Anesthetic efficacy of metomidate and comparison of plasma cortisol responses to tricaine methanesulfonate, quinaldine and clove oil anesthetized channel catfish *Ictalurus punctatus*. **Aquaculture**, v. 218, p. 177–185, 2003.
[https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(02\)00302-2](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(02)00302-2).

SOUZA, C., BALDISSERA, M., BALDISSEROTTO, B., HEINZMANN, B., MARTOS-SITCHA, J. A., MANCERA, J. M. Essential oils as stress-reducing agents for fish aquaculture: A Review. **Frontiers in Physiology**, v. 10, p. 785, 2019.
<https://doi.org/10.3389/fphys.2019.00785>.

SOARES, B. V., NEVES, L. R., FERREIRA, D. O., OLIVEIRA, M. S. B., CHAVES, F. C. M., CHAGAS, E. C., TAVARES-DIAS, M. Antiparasitic activity, histopathology and physiology of *Colossoma macropomum* (tambaqui) exposed to the essential oil of *Lippia sidoides* (Verbenaceae). **Veterinary Parasitology**, v. 234, p. 49–56, 2017.
<https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2016.12.012>.

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

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**, v. 91, p. 409–428, 2017. <https://doi.org/10.1111/jfb.13377>.

TAMURA, T., IWAMOTO, H. Thymol: A classical small-molecule compound that has a dual effect (potentiating and inhibitory) on myosin. **Biochemical and biophysical research communications**, v. 318, p. 786–791, 2004. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2004.04.085>.

TAKAHASHI, L. S., DA SILVA, T. V., FERNANDES, J. B. K., BILLER, J. D., DE SANDRE, L. C. G. Efeito do tipo de alimento no desempenho produtivo de juvenis de acará-bandeira (*Pterophyllum scalare*). **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 36, p. 1–8, 2010. <https://www.pesca.sp.gov.br/boletim/index.php/bip/article/view/896>.

TEIXEIRA, R. R., SOUZA, R. C., SENA, A. C., BALDISSEROTTO, B., HEINZMANN, B. M., COUTO, R. D., COPATTI, C. E. Essential oil of *Aloysia triphylla* in Nile tilapia: Anaesthesia, stress parameters and sensory evaluation of fillets. **Aquaculture Research**, v. 48, p.3383–3392, 2017. <https://doi.org/10.1111/are.13165>.

TEIXEIRA, R. R., SOUZA, R. C., SENA, A. C., BALDISSEROTTO, B., HEINZMANN, B. M., COPATTI, C. E. Essential oil of *Aloysia triphylla* is effective in Nile tilapia transport. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 44, p. 17–24, 2018. <https://doi.org/10.20950/1678-2305.2018.263>.

TOPIC POPOVIC, N., STRUNJAK-PEROVIC, I., COZ-RAKOVAC, R., BARISIC, J., JADAN, M., PERSIN BERAKOVIC, A., SAUERBORN KLOBUCAR, R. Tricaine methane-sulfonate (MS-222) application in fish anaesthesia. **Journal of Applied Ichthyology**, v. 28, p. 553–564, 2012. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0426.2012.01950.x>.

TSUCHIYA, H. Anesthetic agents of plant origin: A review of phytochemicals with anesthetic activity. **Molecules**, v. 22, p. 1369, 2017. <https://doi.org/10.3390/molecules22081369>.

VANDERZWALMEN, M., EDMONDS, E., CAREY, P., SNELLGROVE, D., SLOMAN, K. A. Effect of a water conditioner on ornamental fish behaviour during commercial transport. **Aquaculture**, v. 514, p. 734486, 2020.

<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734486>.

VERAS, G. C., SOARES, L. M. O., BRABO, M. F., PAIXÃO, D. J. M. R., DIAS, B. C. B., ALVES, A. X., MURGAS, L. D. S., CAMPELO, D. A. V. Fotoperíodo e frequência alimentar na larvicultura do acará-bandeira *Pterophyllum scalare*. **Archivos de Zootecnia**, v. 65, p. 581–584, 2016. <https://doi.org/10.21071/az.v65i252.1930>.

VENTURA, A. S., DE CASTRO SILVA, T. S., ZANON, R. B., INOUE, L. A. K. A., CARDOSO, C. A. L. Physiological and pharmacokinetic responses in neotropical *Piaractus mesopotamicus* to the essential oil from *Lippia sidoides* (Verbenaceae) as an anesthetic. **International Aquatic Research**, v. 11, p. 1–12, 2019.

<https://doi.org/10.1007/s40071-019-0215-z>.

VIDAL, L. V. O., ALBINATI, R. C. B., ALBINATI, A. C. L., LIRA, A. D. D., ALMEIDA, T. R. D., SANTOS, G. B. Eugenol como anestésico para a tilápia-do-nilo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 43, p. 1069–1074, 2008. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2008000800017>.

WANG, Z.-J., HEINBOCKEL, T. Essential oils and their constituents targeting the GABAergic system and sodium channels as treatment of neurological diseases. **Molecules**, v. 23, p.1061, 2018.

<https://doi.org/10.3390/molecules23051061>.

WOODY, C. A., NELSON, J., RAMSTAD, K. Clove oil as an anaesthetic for adult sockeye salmon: Field trials. **Journal of Fish Biology**, v. 60, p. 340–347, 2002.

<https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2002.tb00284.x>.

WOLF, J. C., BAUMGARTNER, W. A., BLAZER, V. S., CAMUS, A. C., ENGELHARDT, J. A., FOURNIE, J. W., WOLFE, M. J. Non lesions, misdiagnoses, missed diagnoses, and other interpretive challenges in fish histopathology studies: A

guide for investigators, authors, reviewers, and readers. **Toxicologic Pathology**, v. 43, p. 297–325, 2015. <https://doi.org/10.1177/0192623314540229>.

YOUSEFI, M., HOSEINIFAR, S. H., GHELICHPOUR, M., HOSEINI, S. M. Anesthetic efficacy and biochemical effects of citronellal and linalool in common carp (*Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758) juveniles. **Aquaculture**, v. 493, p. 107–112, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.04.054>.

ANEXOS

Anexo 1. Composição química do óleo essencial de *Lippia sidoides*. TR = Taxa de retenção. IRL = índice de retenção na literatura (Adams, 2009; NIST, 2010).

Composição química	TR	IRL	Área (%)
α -Thujene	3,458	902	1,41
α -Pinene	3,585	948	0,35
3-butenylpropylether	3,640	783	0,02
3-Ethyl-3-methyl-2-pentanone	3,773	868	0,03
Sabinene	4,172	928	0,40
β -Pinene	4,263	943	0,24
Octan-3-one	4,305	952	0,04
Myrcene	4,389	958	1,64
2-Ethylhexanol	4,445	979	0,04
(3Z)-Hexenylacetate	4,636	992	0,01
α -Phellandrene	4,699	969	0,20
α -Terpinene	4,919	919	2,51
<i>p</i> -Cymene	5,075	1042	14,06
Limonene	5,156	1018	0,40
Eucalyptol	5,226	1032	1,46
trans- β -Ocimene	5,473	976	0,34
γ -Terpinene	5,762	998	12,43
trans-Sabinenehydrate	5,947	1041	0,23
(<i>E</i>)-Myroxide	6,446	1140	0,29
cis- β -Terpineol	6,620	1158	0,44
cis- <i>p</i> -menth-2-en-1-ol	7,176	1109	0,05
(<i>S</i>)-ipsdienol	7,697	1120	1,11
Ethanone,	8,040	1184	0,03
1-(methylenecyclopropyl)-			
TerpinHydrate	8,298	1282	0,06
3-Thujen-2-one	8,444	1073	0,09
(-)-4-Terpineol	8,566	1137	0,83
α - α -4-Trimethyl-benzenemethanol	8,736	1197	0,07
α -Terpineol	8,891	1143	0,19
[1,1'-Bicyclopentyl]-2-one	9,144	1273	0,03
2-(2-octenyl)-Cyclopentanone	9,609	1085	0,03
Nerol	9,775	1228	0,01
Thymolmethylether	9,964	1231	0,36
Geranial	10,899	1174	0,97
Thymol	11,521	1289	7,99
Carvacrol	11,836	1298	44,50
(-)- β -Elemene	12,704	1431	0,05
3-Allylguaiacol	13,230	1392	0,07
Carvacrylacetate	13,574	1421	0,28
α -Copaene	13,740	1221	0,12

(<i>E</i>)-Caryophyllene	14,909	1494	3,56
α -Chamigrene	15,055	1512	0,03
trans- α -Bergamotene	15,227	1430	0,02
Aromadendrene	15,406	1386	0,13
Dihydropseudoionone	15,604	1420	0,02
α -Humulene	15,777	1579	0,20
3-tert-Butyl-4-hydroxyanisole	16,499	1417	0,83
Bicyclogermacrene	16,869	1603	0,65
β -Bisabolene	17,064	1500	0,09
δ -Cadinene	17,490	1469	0,10
Elemol	18,132	1522	0,07
Spathulenol	18,886	1536	0,28
Caryophyllene oxide	19,035	1507	0,64
Total			100,00

Anexo 2. Composição química do óleo essencial de *Cymbopogon citratus*. TR = Taxa de retenção. IRL = índice de retenção na literatura (Adams, 2009; NIST, 2010).

Composição química	TR	IRL	Area (%)
β -Pinene	3,385	943	0,02
α -Thujene	3,456	902	0,03
1-(3-ethyloxiranyl)-Ethanone	3,773	868	0,02
Vinylamyl carbinol	4,170	969	0,05
Sulcatone	4,308	938	0,71
Myrcene	4,391	958	12,65
1,5-dimethyl-1,5-Cyclooctadiene	5,145	1103	0,01
β -Ocimene	5,250	976	0,47
2,5,5-trimethyl-1,6-Heptadiene	5,600	888	0,08
Seudenone	5,729	962	0,03
1,2-Oxolinalool	6,036	1182	0,06
(<i>E</i>)-Myroxide	6,445	1145	0,17
Linalool	6,595	1101	1,00
Myrtanal	6,810	1126	0,10
5-(methylenecyclopropyl)-1-Pentanol	6,963	1128	0,10
2,3,4,5-Tetramethyl-2-cyclopentenone	7,473	1054	0,03
Geranial	7,667	968	0,49
trans-Chrysanthemol	7,861	1230	0,37
2,6-dimethyl-1,5,7-Octatrien-3-ol	7,965	1120	0,06
Isogeranial	8,146	1136	1,08
Rosefuraneepoxide	8,415	1177	0,01
Isogeranial	8,597	948	1,83
Lilacaldehyde C	8,952	1197	0,18
Estragole	9,065	1172	0,04
[1,1'-Bicyclopentyl]-2-one	9,148	1273	0,05
cis-Carveol	9,300	1206	0,05
6,7-Dihydrogeraniol	9,767	1179	0,31
2,3-epoxygeranial	9,923	1215	0,10
Geraniol	10,457	1228	3,51

<i>α</i> -citral	10,954	1174	73,56
Epoxy-linalooloxide	11,303	1224	0,35
Undecan-2-one	11,452	1251	0,31
Geranyl formate	11,691	1349	0,02
5-Hexenyl laurate	12,688	1986	0,05
Geranicacid	13,107	1342	0,21
trans-2-[2'-(2"-Methyl-1"-propenyl)cyclopropy	13,638	1056	0,07
Geranylacetate	13,800	1380	0,66
Verbenone	14,820	1119	0,03
(<i>E</i>)-Caryophyllene	14,901	1494	0,15
<i>α</i> -cis-Bergamotene	15,230	1430	0,03
2-Tridecanone	16,665	1449	0,24
Caryophyllene oxide	19,033	1507	0,07
Selina-6-en-4-ol	19,874	1593	0,08
m-Camphorene	27,023	1940	0,03
trimethylsilylester-Palmiticacid	28,812	1987	0,05
Adipicacid	35,172	2414	0,04
Oleoylchloride	35,680	2131	0,03
Total			99,61