

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA - UFBA**  
**PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

**ÓLEO ESSENCIAL DE *Aloysia triphylla* (L'HER.) BRITTON NO SISTEMA  
PRODUTIVO DE TILÁPIA DO NILO: MANEJO E TRANSPORTE**

**RAFAEL RIVAS TEIXEIRA**

**SALVADOR - BA**  
**SETEMBRO - 2015**



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA - UFBA**  
**PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

**ÓLEO ESSENCIAL DE *Aloysia triphylla* (L'HER.) BRITTON NO SISTEMA  
PRODUTIVO DE TILÁPIA DO NILO: MANEJO E TRANSPORTE**

**RAFAEL RIVAS TEIXEIRA**

**SALVADOR - BA**  
**SETEMBRO - 2015**

**RAFAEL RIVAS TEIXEIRA**

**ÓLEO ESSENCIAL DE *Aloysia triphylla* (L'HER.) BRITTON NO SISTEMA  
PRODUTIVO DE TILÁPIA DO NILO: MANEJO E TRANSPORTE**

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

Área de Concentração: Produção de Peixes

Orientador: Prof. Dr. Carlos Eduardo Copatti

**SALVADOR - BA  
SETEMBRO - 2015**

## Sistema de Bibliotecas da UFBA

Teixeira, Rafael Rivas.

Óleo essencial de *Aloysia triphylla* (L'HER.) BRITTON no sistema produtivo de tilápia do Nilo: manejo e transporte / Rafael Rivas Teixeira. - 2015.  
81 f.: il.

Orientador: Prof. Dr. Carlos Eduardo Copatti.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal da Bahia, Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia, Salvador, 2015.

1. Tilápia (Peixe) - Efeito do stress. 2. Essências e óleo essenciais. 3. Anestésicos. 4. Stress (Fisiologia). I. Copatti, Carlos Eduardo. II. Universidade Federal da Bahia. Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia. III. Título.

CDD - 639.3  
CDU - 639.3


**ÓLEO ESSENCIAL DE *Aloysia triphylla* (L'HER.) BRITTON NO  
SISTEMA PRODUTIVO DE TILÁPIA DO NILO: MANEJO E  
TRANSPORTE**

Rafael Rivas Teixeira

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


Salvador, 30 de setembro de 2015

Comissão examinadora:



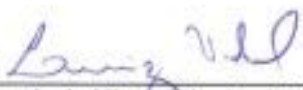
---

**Dr. Carlos Eduardo Copatti**  
UFBA  
Orientador / Presidente



---

**Dr. José Fernando Bibiano Melo**  
UNIVASF



---

**Dr. Luiz Vitor Oliveira Vidal**  
UFBA

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, por estar ao meu lado e conduzir os meus passos em todos os momentos da minha vida.

Agradeço à minha Família, em especial minha mãe Fátima e meu irmão Thiago, que representam muito mais do que a minha base e incentivo, vocês são o motivo que me faz buscar o meu melhor a cada dia.

Às minhas avós, avô, tios, primos e amigos que de alguma forma foram fundamentais para esta nova conquista.

Agradeço ao professor Carlos Copatti pela orientação, confiança e ensinamentos.

Agradeço a toda a equipe do Laboratório de Estudos e Fisiologia de Fauna Aquática. Em especial a Renilde, Artur e Elizângela pela amizade, companheirismo e por toda a ajuda na condução do experimento.

Àos professores Albinati e André, pelos conhecimentos compartilhados e amizade.

Agradeço aos funcionários da CODEVASF, em especial a Rozzano, pela estrutura, animais, acolhimento e disponibilidade, que tornaram possível a execução do experimento.

Àos funcionários e estagiários do Laboratório de Extensão em Análises Clínicas, em especial professor Ricardo Couto, Lázaro e Vanessa, pelo auxílio nas análises e disponibilidade ao meu projeto.

Por fim, agradeço a CAPES pela bolsa concedida.

## LISTA DE FIGURAS

### Capítulo 1

#### Página

**Figura 1** - Efeito do óleo essencial de *Aloysia triphylla* (300 uL.L<sup>-1</sup>) sobre os níveis plasmáticos de cortisol (A), glicose (B), paraoxonase (C) e lactato (D) em juvenis de tilápia do Nilo após 0, 1 e 4 h de exposição ao manejo (1 min). Os dados são expressos em média ± SEM (n=8). Letras maiúsculas distintas indicam diferença significativa em um mesmo tempo. Letras minúsculas distintas indicam diferença significativa nos diferentes tempos para um mesmo tratamento (com ou sem anestésico). (P < 0,05).

**32**

### Capítulo 2

#### Página

**Figura 1** - Efeito do óleo essencial de *Aloysia triphylla* sobre os parâmetros iônicos da água antes e após o transporte (8 h) de juvenis de tilápia do Nilo. Os dados são expressos em média ± SEM (n=3). Letras distintas indicam diferença significativa entre os tratamentos (P < 0,05).

**56**

**Figura 2** – Efeito de diferentes concentrações de óleo essencial de *Aloysia triphylla* sobre os níveis plasmáticos de cortisol (A), glicose (B), paraoxonase (C) e lactato (D) em juvenis de tilápia do Nilo submetidos ao transporte (8 h). Os dados são expressos em média ± SEM (n=12). Letras distintas indicam diferença significativa entre os tratamentos (P < 0,05).

**57**

## LISTA DE TABELAS

### Capítulo 1

	<b>Página</b>
<b>Tabela 1</b> – Composição química do óleo essencial de <i>Aloysia triphylla</i> . TR: Tempo de retenção; IRC: Índice de Retenção Calculado; IRL: Índice de Retenção da Literatura (NIST, 2008; ADAMS, 2009).	<b>29</b>
<b>Tabela 2</b> - Tempos de sedação, anestesia e recuperação anestésica em juvenis de tilápia do Nilo sob diferentes concentrações do óleo essencial de <i>Aloysia triphylla</i> ( $\mu\text{L.L}^{-1}$ ). Estágios de acordo com Small (2003). Os dados são expressos em média $\pm$ SEM (n=8).	<b>31</b>

### Capítulo 2

	<b>Página</b>
<b>Tabela 1</b> - Parâmetros de qualidade de água antes e após o transporte com adição do óleo essencial de <i>Aloysia triphylla</i> para juvenis de tilápia do Nilo. Valores expressos em Média $\pm$ SEM (n=3). Letras distintas indicam diferença significativa entre os tratamentos ( $P < 0,05$ ). Oxigênio dissolvido expresso em $\text{mg.L}^{-1}$ , temperatura em $^{\circ}\text{C}$ , condutividade em $\text{mS.cm}^{-1}$ , nitrito e amônia total em $\text{mg.L}^{-1}$ N- $\text{NO}_2$ , amônia não ionizada em $\mu\text{g.L}^{-1}$ de N- $\text{NH}_3$ , alcalinidade e dureza em $\text{mg.L}^{-1}$ $\text{CaCO}_3$ .	<b>55</b>
<b>Tabela 2</b> - Frequência Ventilatória de juvenis de tilápia do Nilo expostos a diferentes concentrações de óleo essencial de <i>Aloysia triphylla</i> (8 h). Valores expressos em Média $\pm$ SEM (n=8). Letras maiúsculas distintas nas linhas indicam diferença significativa entre os tratamentos no mesmo tempo ( $P < 0,05$ ). Letras minúsculas distintas nas colunas indicam diferença significativa entre os tempos em um mesmo tratamento ( $P < 0,05$ ).	<b>58</b>



## SUMÁRIO

	Página
<b>ÓLEO ESSENCIAL DE <i>Aloysia triphylla</i> (L'HER.) BRITTON NO SISTEMA PRODUTIVO DE TILÁPIA DO NILO: MANEJO E TRANSPORTE</b>	
Introdução Geral .....	1
Revisão de literatura Geral .....	7

### CAPÍTULO 01

Óleo essencial de <i>Aloysia triphylla</i> na indução anestésica, no manejo e na análise sensorial de tilápia do Nilo	
Resumo .....	22
Abstract .....	23
Introdução .....	24
Material e Métodos .....	25
Resultados .....	29
Discussão .....	33
Conclusões .....	38
Referências .....	38

### CAPÍTULO 02

Óleo essencial de <i>Aloysia triphylla</i> no transporte de tilápia do Nilo: frequência ventilatória, qualidade da água, parâmetros iônicos e plasmáticos.	
Resumo .....	48
Abstract .....	49
Introdução .....	50
Material e Métodos .....	51
Resultados .....	54
Discussão .....	59
Conclusões .....	64
Referências .....	64
<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS E IMPLICAÇÕES .....</b>	<b>72</b>

## INTRODUÇÃO GERAL

A piscicultura é uma modalidade da aquicultura que consiste na criação de peixes em ambientes artificiais, é o segmento da produção animal que mais cresce no cenário mundial, tendo alcançado seus melhores índices globais nos últimos anos, sua taxa de crescimento é maior do que a taxa de outras atividades como bovinocultura, avicultura e suinocultura, gerando cada vez mais ganhos econômicos (CREPALDI et al., 2007; FAO, 2014).

Apesar dos avanços, a piscicultura ainda enfrenta problemas relacionados à infra-estrutura e à ausência de conhecimentos técnico-científicos relacionados ao setor, bem como a divulgação de tecnologias que contribuam para o sucesso da atividade (SANTOS e SANTOS, 2005). A rotina na piscicultura é composta por uma série de práticas de manejo tais como: biometria, transporte e reprodução induzida e estas práticas estressam facilmente os peixes, o que ocasiona uma série de efeitos negativos na produção (URBINATI e CARNEIRO, 2005). Com isso, o uso de anestésicos vem se tornando uma prática comum na mitigação do estresse ocasionado por diversas atividades de rotina em pisciculturas (VELÍŠEC et al., 2009; ZAHL et al., 2009).

**Tabela 1** – Principais produtos anestésicos e respectivas concentrações para o manejo e transporte de tilápia do Nilo.

MANEJO		
Anestésico	Concentração	Autor
MS – 222	100 a 200 mg.L <sup>-1</sup>	COYLE et al., 2004 CHAROENDAT et al., 2009
Quinaldina	25 a 50 mg.L <sup>-1</sup>	COYLE et al., 2004
Benzocaína	25 a 190 mg.L <sup>-1</sup>	COYLE et al., 2004 OLIVEIRA et al., 2009 OKAMURA et al., 2010 ROCHA et al., 2012
2-fenoxietanol	400 a 600 mg.L <sup>-1</sup>	COYLE et al., 2004
Mentol	125 a 200 mg.L <sup>-1</sup>	MELLO et al., 2012 SIMÕES e GOMES, 2009
Eugenol	50 a 120 mg.L <sup>-1</sup>	VIDAL et al., 2008 DERIGGI PISANI et al., 2006 SIMÕES et al., 2011 DELBON e RANZANI PAIVA, 2012 SIMÕES et al., 2012 MEDEIROS SILVA et al., 2014
Óleo essencial de <i>Lippia alba</i>	500 µL.L <sup>-1</sup>	HOHLENWERGER, 2015

TRANSPORTE		
Eugenol	2 e 5 mg.L <sup>-1</sup>	OLIVEIRA et al., 2009
Benzocaína	20 e 40 mg.L <sup>-1</sup>	OLIVEIRA et al., 2009
Óleo essencial de <i>Lippia alba</i>	20 µL.L <sup>-1</sup>	HOHLENWERGER, 2015

Os anestésicos regulamentados e mais utilizados no mundo têm apresentado efeitos adversos e indesejáveis tanto para os peixes, quanto para os manipuladores, o que têm estimulado a busca por novos produtos anestésicos eficazes (ROUBACH et al., 2005; GUÉNETTE et al., 2007).

Óleos essenciais de diversas espécies de plantas têm demonstrado potencial efeito anestésico e são, inclusive, tão ou mais eficientes quando comparados aos anestésicos sintéticos mais utilizados no mundo, como o MS-222 e a benzocaína (PIRHONEN et al., 2003; GOLÇALVES et al., 2008; GRESSELER et al., 2014).

O óleo essencial de *Aloysia triphylla* tem demonstrado efeito sedativo e anestésico em peixes (PARODI et al., 2014; ZEPPEFELD et al., 2014; GRESSELER et al., 2014; DANIEL et al., 2014) e camarões (PARODI et al., 2012), entretanto, a eficácia e a segurança de qualquer anestésico varia entre as espécies de peixes e outros fatores, como condições ambientais e estágio de desenvolvimento (KING et al. 2005).

Portanto, o objetivo deste trabalho foi determinar as melhores concentrações do óleo essencial de *A. triphylla* no sistema produtivo de tilápia do Nilo. No manejo, a melhor concentração foi avaliada com base em sobrevivência, tempos de indução e recuperação anestésica, parâmetros plasmáticos relacionados ao estresse e características organolépticas do filé. Para o transporte, a melhor concentração foi determinada com base em sobrevivência, qualidade da água, parâmetros plasmáticos e iônicos, além de frequência ventilatória.

## REFERÊNCIAS

CHAROENDAT, U.; AREECHON, N.; SRISAPOOMEL, P.; CHANTASART, D. Efficacy of synthetic eugenol as an anesthetic for Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus* Linn.). **Kasetsart Journal: Natural Science, Thailand**, v. 43, p. 132-140, 2009.

- COYLE, S. D.; DURBOROW, R. M.; TIDWELL, J. H. Anaesthetics in aquaculture. Texas: **SRAC**, 2004. 6p. (SRAC Publications, 3900).
- CREPALDI, D. V.; FARIA, P. M. C.; TEIXEIRA, E. A.; RIBEIRO, L. P.; MELO, D. C.; CINTRA, A. P. R.; DRUMOND, M. L.; LOPES, V. E. S.; MORAIS, V. E.; COSTA, F. A. A. Situação da aquicultura e da pesca no Brasil e no mundo. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 30, p. 81 - 85, 2007.
- DANIEL, A. P.; VEECK, A. P. L.; KLEIN, B.; FERREIRA, L. F.; CUNHA, M. A.; PARODI, T. V.; ZEPPENFELD, C. C.; SCHMIDT, D.; CARON, B. O.; HEINZMANN, B. M.; BALDISSEROTTO, B. EMANUELLI, T. Using the essential oil of *Aloysia triphylla* (L'Her.) Britton to sedate silver catfish (*Rhamdia quelen*) during transport improved the chemical and sensory qualities of the fish during storage in ice. **Journal of Food Science**, v. 79. p. 1205 - 1211, 2014.
- DELBON M. C.; RANZANI PAIVA M. J. T. Eugenol em juvenis de tilápia do nilo: concentrações e administrações sucessivas **Boletim do Instituto de Pesca**, v.38, p.43 - 52, 2012.
- DERIGGI-PISANI, G. F.; INOUE, L. A.; MORAES, G. Stress responses to handling in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* Linnaeus): assessment of eugenol as an alternative anesthetic. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v. 28, p. 269-274, 2006.
- FAO - FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION. Disponível em: <<http://www.fao.org>> Acesso em: 28 agosto 2015.
- GONÇALVES, A. F. N.; SANTOS, E. C. C.; FERNANDES, J. B. K.; TAKAHASHI, L. S. Mentol e eugenol como substitutos da benzocaína na indução anestésica de juvenis de pacu. **Acta Scientiarum Animal Sciences**, v. 30, p. 339 - 344, 2008.
- GRESSELER, L. T.; RIFFEL, A. P. K.; PARODI, T. V.; SACCOL, E. M. H.; KOAKOSKI, G.; COSTA, S. T.; PAVANATO, M. A.; HEINZMANN, B. M.; CARÓN, B.; SCHMIDT, D.; LLESUY, S. F.; BASCELLOS, L. J. G.; BALDISSEROTTO, B. Silver catfish (*Rhamdia quelen*) immersion anaesthesia with essential oil of *Aloysia triphylla* (L'Herit) Britton or tricaine

- methanesulfonate: effect on stress response and antioxidant status. **Aquaculture Research**, v. 45, p. 1061 - 1072, 2014.
- GUÉNETTE, S. A.; UHLAND, F. C.; HÉLIE, P.; BEAUDRY, F.; VACHON, P. Pharmacokinetics of eugenol in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, v. 266, p. 262 - 265, 2007.
- HOHLENWERGER, J. C. **Óleo essencial de *Lippia alba* no manejo e transporte de tilápia do nilo**. Janeiro de 2015. 60 f. Dissertação apresentada ao Programa de Pós graduação em Zootecnia, como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em Zootecnia, Salvador. Bahia. Brasil. 2015.
- KING, W.V.; HOOPER, B.; HILLSGROVE, S.; BENTON, C.; BERLINSKY, D. L.; The use of clove oil, metomidate, tricaine methanesulphonate and 2-phenoxyethanol for inducing anaesthesia and their effect on the cortisol stress response in black sea bass (*Centropristis striata* L.). **Aquaculture Research**, v. 36, p.1442 - 1449, 2005.
- MEDEIROS-SILVA, R. M.; LIMA, E. L. R.; SANTOS NETO, M. A.; ANDRADE, H. A. EUGENOL NA ANESTESIA DA TILÁPIA-DO-NILO (*Oreochromis niloticus*). **Agrarian**, v. 7, p. 590-597, 2014.
- MELLO, R. A., COSTA L. S., OKAMURA, D., ARAÚJO, F. G., RIBEIRO, P. A. P., CORRÊA, F. M., ROSA, P. V.. Avaliação de 2-fenoxietanol e mentol como agentes anestésicos em tilápias. **Boletim do Instituto de Pesca**, v.38, p.53-59, 2012.
- OKAMURA, D. ; ARAÚJO, F. G.; LOGATO, P. V. R.; FREITAS, R. T. F.; MURGAS, L. D. S.; CÉSAR, M. P. Influência da concentração de benzocaína e do comprimento dos peixes na anestesia e na recuperação de tilápias-do-nilo. **Revista Brasileira de Zootecnia / Brazilian Journal of Animal Science**, v. 39, p. 971-976, 2010.
- OLIVEIRA, J. R.; CARMO, J. L.; OLIVEIRA, K. K. C.; SOARES, M. C. F. Cloreto de sódio, benzocaína e óleo de cravo-da-índia na água de transporte de tilápia-do-nilo. **Brazilian Journal of Animal Science**, v. 38, p. 1163-1169, 2009.

- PARODI, T. V.; CUNHA, M. A.; HELDWEIN, C. G.; SOUZA, D. M.; MARTINS, A. C.; GARCIA, L. O.; WASIELESKY JUNIOR, W.; MONSSERAT, J. M.; SCHIMIDT, D.; CARON, B.; HEINZMANN, B.; BALDISSEROTTO, B. The anesthetic efficacy of eugenol and the essential oils of *Lippia alba* and *Aloysia triphylla* in post-larvae and sub-adults of *Litopenaeus vannamei* (Crustacea, Penaeidae). **Comparative Biochemistry and Physiology Part C**, v. 155, p. 462 - 468, 2012.
- PARODI, T. V.; CUNHA, M. A.; BECKER, A. G.; ZEPPENFELD, C. C.; MARTINS, D. I.; KOAKOSKI, G.; BARCELLOS, L. G.; HEINZMANN, B. M.; BALDISSEROTTO, B. 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.
- PIRHONEN, J.; SCHRECK, C. B. Effects of anesthesia with MS- 222, clove oil and CO<sub>2</sub> on feed intake and plasma cortisol in steelhead trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, v. 220, p. 507 - 514, 2003.
- ROCHA, M. A.; GRUMADAS, C. E. S.; RIBEIRO, E. L. A.; MIZUBUTI, I. Y.; CONSTATINO, C. Determinação da dose ótima de cloridrato de benzocaína na anestesia de tilápias (*Oreochromis niloticus*). **Semina: Ciências Agrárias**, v. 33, p. 2403-2410, 2012.
- ROUBACH, R.; GOMES, L. C.; FONSECA, F. A. L.; VAL, A. L. Eugenol as an efficacious anaesthetic for tambaqui, *Colossoma macropomum* (Cuvier). **Aquaculture Research**, v. 36, p. 1056 - 1061, 2005.
- SANTOS, G. M.; SANTOS, A. C. M. Sustentabilidade da pesca na Amazônia. **Estudos Avançados**, v. 19, p. 165 - 182, 2005.
- SIMÕES, L. N.; GOMES, L. C. Eficácia do mentol como anestésico para juvenis de tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 61, p. 613-620, 2009.
- SIMÕES, L. N.; GOMIDE, A. T. M.; ALMEIDA-VAL, V. M. F.; VAL, A. L.; GOMES, L. C. O uso do óleo de cravo como anestésico em juvenis avançados

de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) durante o manejo: determinação da concentração e do tempo de exposição ideal e respostas de estresse. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v. 34, p. 175-181, 2012.

SIMÕES, L. N.; LOMBARDI, D. C.; GOMIDE, A. T. M.; GOMES, L. C. Efficacy of clove oil as anesthetic during handling and transportation of Nile tilapia juveniles (*Oreochromis niloticus*). **Aquaculture**, v. 28, p. 285-290, 2011.

URBINATI, E. C.; CARNEIRO, P. C. F. Práticas de manejo e estresse dos peixes em piscicultura. In: CYRINO, J. E. P, Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva. 1. ed. Jaboticabal: **Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia Aquática**, p. 171 - 194, 2005.

VELÍŠEC, J.; STEJSKAL, V.; KOU IL, J.; SVOBODOVÁ, Z. Comparison of the effects of four anaesthetics on biochemical blood profiles of perch. **Aquaculture Research**, v. 40, p. 354 - 361, 2009.

VIDAL, L. V. O.; ALBINATI, R.C.B.; ALBINATI, A.C.L.; de LIRA, A.D.; de ALMEIDA, T.R.; SANTOS, G.B. Eugenol como anestésico para a tilápia-do-nilo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.43, p.1069-1074, 2008.

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

ZEPPENFELD, C. C.; TONI, C.; BECKER, A. G.; MIRON, D. S.; PARODI, T. V.; HEINZMANN, B. M.; BARCELLOS, L. J. G.; KOAKOSKI, G.; ROSA, J. G. S.; LORO, V. L.; CUNHA, M. A.; BALDISSEROTTO, B. Physiological and biochemical responses of silver catfish, *Rhamdia quelen*, after transport in water with essential oil of *Aloysia triphylla* (L'Herit) Britton. **Aquaculture**, v. 418 - 419, p. 101 - 107, 2014.

## REVISÃO DE LITERATURA

### USO DE ANESTÉSICOS EM PISCICULTURA

Alguns procedimentos de rotina em pisciculturas, como a biometria e o transporte, são fontes de estresse para os peixes, e, quando mal conduzidos desencadeiam consequências, como o aparecimento de patógenos e doenças, que podem levar à morte dos indivíduos (BARCELLOS et al., 2000; INOUE et al., 2003).

A presença de raios duros nas nadadeiras de algumas espécies de peixes representa um risco, tanto aos manipuladores quanto aos demais indivíduos, e, o uso de anestésicos possibilita a imobilização do animal facilitando o manejo destes indivíduos. (GIMBO et al., 2008; SIMÕES e GOMES, 2009; VELÍŠEC et al., 2009). O uso durante o transporte além de evitar ferimentos nos animais reduz a sua taxa metabólica, o que influencia na manutenção da qualidade da água (COYLE et al., 2004).

Quando submetidos a um anestésico os peixes passam por vários níveis ou estágios de anestesia, que são influenciados pela concentração e pelo tempo de exposição (COOKE et al., 2004). Os estágios são caracterizados desde a perda sensorial até o colapso medular (morte) por exposição prolongada ao anestésico, conforme Tabela 1:

**Tabela 1.** Estágios de anestesia em peixes. Adaptado de Small (2003)

Estágio	Características
1	Redução à reação a estímulos externos
2	Sedação. Perda parcial do equilíbrio. Natação errática
3	Anestesia. Perda total do equilíbrio. Cessa a locomoção
4	Colapso medular (morte). Sem movimentos respiratórios (morte)

A anestesia profunda (estágio 3) é caracterizada pela completa imobilização do peixe e, por este motivo, representa o estágio indicado para o manejo dos indivíduos. Para o transporte, recomenda-se a sedação (estágio 2) em virtude da manutenção parcial do equilíbrio, redução das taxas metabólicas e influência sobre a qualidade da água,



como redução do consumo de oxigênio dissolvido e excreção de amônia (COOKE et al., 2004; BECKER et al., 2012).

Um agente anestésico ideal deve induzir a anestesia profunda em um período de 60 a 180 segundos e o tempo de recuperação ser inferior a 300 segundos (MARKING e MEYER, 1985). Adicionalmente, características como viabilidade econômica, disponibilidade, praticidade no uso, eficácia e segurança para o usuário também devem ser levadas em consideração na escolha do anestésico (CHO e HEATH, 2000). O produto anestésico utilizado não deve ainda alterar as características organolépticas do filé do peixe, o que pode, inclusive, implicar na rejeição dos filés pelos consumidores, inviabilizando a utilização de determinado anestésico ou de determinada concentração (RIBAS et al., 2007; CUNHA et al., 2010)

Apesar dos conhecimentos acerca dos benefícios da utilização de anestésicos em piscicultura, não existe ainda legislação internacional referente à utilização de agentes químicos em peixes para o consumo humano, embora países como os Estados Unidos e Nova Zelândia já tenham regulamentação quanto ao uso de anestésicos (VIDAL et al., 2008). Desta forma, de maneira geral, podem-se seguir as recomendações do FDA (Food and Drug administration), agência norte-americana que regulamenta os anestésicos que podem ser utilizados nos peixes destinados ao consumo (COYLE et al., 2004).

Tricaína metano sulfonato (MS-222), sulfato de quinaldina e 2-fenoxietanol são as principais substâncias sintéticas utilizadas na anestesia de peixes, entretanto estas substâncias têm apresentado toxicidade e outros efeitos adversos (GOMES et al., 2001; ROUBACH et al., 2005). Segundo Bittencourt et al., (2015), a resolução 1000 de 2012 do Conselho Federal de Medicina Veterinária do Brasil autoriza a eutanásia de peixes com o uso de barbitúricos, CO<sub>2</sub>, tricaína metano sulfonato (MS222), hidrocloreto de benzocaína e 2-fenoxietanol. Porém, de maneira geral, o alto custo destas substâncias e as dificuldades de importação inviabilizam a sua utilização (ROUBACH et al., 2005). A concentração de MS-222 para anestésiar um peixe, por exemplo, é cerca de dez vezes mais custosa que uma concentração similar de benzocaína, que é um dos anestésicos mais utilizados no Brasil (GOMES et al., 2001).

Frente às dificuldades encontradas para aquisição dos anestésicos sintéticos, percebe-se a necessidade de descoberta de novos produtos anestésicos que ofereçam custos reduzidos e segurança para os peixes e manipuladores, estimulando pesquisas com novos produtos, como é o caso de muitos óleos essenciais derivados de plantas (FAÇANHA e GOMES, 2005; GUÉNETTE et al., 2007).

## ÓLEOS ESSENCIAIS ANESTÉSICOS

Os óleos essenciais são compostos naturais, voláteis e complexos, formados por hidrocarbonetos, alcoóis e aromáticos, caracterizados por um forte odor. São compostos líquidos e límpidos, sintetizados durante o metabolismo secundário a partir de qualquer parte da planta (BAKKALI et al., 2008; MACHADO e FERNANDES JÚNIOR, 2011).

O eugenol e o mentol são anestésicos naturais produzidos no Brasil e demonstraram ser eficientes em substituição à benzocaína (GONÇALVES et al., 2008). O eugenol é o princípio ativo do óleo de cravo, substância fenólica obtida da destilação das folhas, caule e flores do cravo da Índia (*Syzygium aromaticum*) (MAZZAFERA, 2003). Seu potencial anestésico já foi comprovado para diversas espécies de peixes como a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) (VIDAL et al., 2008; SIMÕES et al., 2012), carpa comum (*Ciprinus carpio*) (HAJEK et al., 2006) e dourado (*Salminus brasiliensis*) (HISANO et al., 2008). Já o mentol é extraído de óleos essenciais de plantas do gênero *Mentha* (PATEL et al., 2007). E o seu potencial anestésico para piscicultura já foi avaliado em tilápia do Nilo (SIMÕES e GOMES, 2009; TEIXEIRA et al., 2012), pacu (*Piaractus mesopotamicus*) (GONÇALVES et al., 2008), dourado (PÁDUA et al., 2010).

O óleo essencial de *Lippia alba* é eficiente como anestésico e sedativo no manejo e transporte de tilápia do Nilo (HOHLENWERGER, 2015), jundiás (*Rhamdia quelen*) (CUNHA et al., 2010; AZAMBUJA et al., 2011; BECKER et al., 2012) e cavalo marinho (*Hippocampus reidi*) (CUNHA et al., 2011). O potencial sedativo do óleo essencial de *Hesperozygis ringens* também foi avaliado para o jundiá expostos por longo período (6h) a baixas concentrações (30 a 50  $\mu\text{L.L}^{-1}$ ) do anestésico (TONI et al., 2015). Os óleos essenciais de *Cinnamomum camphora* (500  $\mu\text{L.L}^{-1}$ ), *Syzygium aromaticum* (27  $\mu\text{L.L}^{-1}$ ) e *Mentha arvensis* (70  $\mu\text{L.L}^{-1}$ ) foram eficientes na anestesia do

peixe palhaço (*Amphiprion ocellaris*) (PEDRAZZANI e NETO, 2014), e foram recomendados com base nos tempos de indução e recuperação anestésica.

Existem ainda outros óleos essenciais que possuem um promissor efeito anestésico e sedativo, como de *Aloysia triphylla*, o que representa mais uma alternativa frente às dificuldades e restrições encontradas nos anestésicos convencionais.

### **ÓLEO ESSENCIAL DE *Aloysia triphylla***

A *A. triphylla*, popularmente conhecida como cidrão ou erva Luíza, pertence à família Verbenaceae, pode atingir 3 metros de altura e é nativa da América do Sul, sendo muito cultivada no sul do Brasil. É adstringente e aromática, rica em óleo volátil, que age como sedativo brando. Suas folhas são utilizadas contra resfriados febris, como estimulante, tônico, antiespasmódico e calmante (LORENZI e MATOS, 2002; SCHWERZ et al., 2015), além do uso culinário. O principal constituinte do óleo essencial de *A. triphylla* (OEAT) é o citral, que é formado pelos isômeros geranial e neral (PARODI et al., 2012; PAULUS et al., 2013; PARODI et al., 2013; DANIEL et al., 2014).

O uso do OEAT nas concentrações de 100 a 800  $\mu\text{L.L}^{-1}$  mostrou-se eficiente na indução anestésica (anestesia profunda) em jundiás albinos e cinzas e não ocasionou mortalidade. Ainda neste estudo, a utilização de 30 a 50  $\mu\text{L.L}^{-1}$  de OEAT na água de transporte resultou em menores perdas iônicas e redução dos danos fisiológicos ocasionados pelo transporte (PARODI et al., 2014). Em pós larvas de camarão branco (*L. vannamei*) a sedação com OEAT foi observada nas concentrações de 30 a 40  $\mu\text{L.L}^{-1}$ , enquanto que para transporte recomenda-se 20 a 50  $\mu\text{L.L}^{-1}$  de OEAT, o que contribui para a elevação da atividade da enzima catalase (PARODI et al., 2012). A utilização de 40  $\mu\text{L.L}^{-1}$  de OEAT foi eficiente no transporte de jundiá, em virtude da redução dos níveis de cortisol plasmático e excreção de amônia, o que reflete na condição de estresse dos animais (ZEPPENFELD et al., 2014).

O OEAT apresentou resultados promissores como estímulo à capacidade antioxidante e prevenção da lipoperoxidação, além de uma menor liberação de cortisol quando comparado ao MS-222 para jundiás. Neste estudo os autores destacaram ainda que a determinação de um bom anestésico envolve outras questões além dos tempos de

indução e recuperação, como por exemplo a influência deste anestésico sobre a fisiologia dos animais relacionado à condição de estresse (GRESSELER et al., 2014).

Jundiás transportados (6 h) com  $40 \mu\text{L.L}^{-1}$  de OEAT como sedativo reduziram seu metabolismo e apresentaram melhor bem-estar antes do abate. O uso do OEAT contribuiu ainda na manutenção do frescor do pescado e aumentou o período de armazenamento sob refrigeração, o que evidencia a influência do OEAT sobre a conservação do peixe destinado a indústria de alimentos (DANIEL et al., 2014).

## **ESTRESSE EM PEIXES**

A presença de agentes estressores pode refletir em modificações transitórias da regulação fisiológica em peixes que, a depender do tipo, duração e severidade podem ocorrer em três fases. A primeira fase, em nível neuroendócrino, envolve a percepção do estressor e mobilização dos sistemas biológicos envolvidos na resposta. A segunda é mais generalizada, envolve muitos órgãos e tecidos, e é caracterizada pela resistência e ajuste da condição corporal frente à necessidade de adaptação às condições homeostáticas alteradas. Por fim, a terceira etapa é definida pela perda da capacidade adaptativa e exaustão dos sistemas biológicos (URBINATI et al., 2014).

A resposta primária desencadeia um mecanismo cerebral de alarme que envolve dois eixos distintos: o sistema adrenérgico e o eixo hipotálamo-hipófise. Segundos após a presença do estressor, ocorre a ativação do sistema de estresse e consequente liberação de catecolaminas, adrenalina e noradrenalina, das células cromafins. As catecolaminas têm influência na ativação do sistema respiratório e circulatório, aumentam a distribuição de oxigênio e buscam atender a maior demanda energética corporal, além de atuarem no fígado por estimular a glicogenólise com consequente aumento dos níveis glicêmicos (ROSS e ROSS, 2008; URBINATI et al., 2014).

As catecolaminas, em virtude da sua influência sobre o sistema respiratório e circulatório, elevam a pressão sanguínea, os batimentos operculares e dilatam os vasos sanguíneos das brânquias, com consequente aumento da perfusão nas lamelas e maior captação de oxigênio. Entretanto, o aumento da perfusão nas lamelas aumenta a permeabilidade branquial, que causa uma maior perda de íons por difusão do sangue

para o meio externo e entrada de água por osmose em peixes de água doce (FABBRI et al., 1998; OBA et al., 2009).

Após período de latência, ocorre a ativação do eixo hipotálamo-hipófise com consequente liberação de glicocorticóides, especialmente o cortisol, pelas células interrenais. Este hormônio, juntamente com as catecolaminas, atuará nos mecanismos de resposta secundária frente ao estressor (URBINATI et al., 2014).

As respostas secundárias ao estresse são alterações fisiológicas, metabólicas e ionorregulatórias, como hiperglicemia e hiperlactacemia, ocasionadas pela ação das catecolaminas e do cortisol, minutos a horas após a situação estressante (OBA et al., 2009). Os níveis plasmáticos de cortisol e glicose são os indicadores mais utilizados na avaliação do estresse em peixes (GOMES et al., 2003).

O aumento dos níveis de glicose nos peixes estressados é primeiramente ocasionado pela ação das catecolaminas na quebra do glicogênio hepático (glicogênese), sendo utilizado como fonte primária de energia para os indivíduos. Posteriormente, o cortisol exerce influência sobre a manutenção dos níveis elevados de glicose e recuperação do glicogênio hepático, além de aumentar a capacidade gliconeogênica suprimindo a demanda de glicose por meio de substratos como o lactato e aminoácidos (URBINATI et al., 2014).

Nos casos em que a condição estressante perdure por muito tempo os peixes podem apresentar alterações patológicas, uma vez que a energia tenha sido direcionada para órgãos e funções envolvidas na sobrevivência, como a respiração e natação, o que reduz o fornecimento de energia para outras atividades anabólicas, como o crescimento e reprodução, caracterizando a resposta terciária ao estresse (OBA et al., 2009; URBINATI et al., 2014).

A paraoxonase tem sido relacionada à proteção do organismo ao estresse oxidativo, prevenindo danos ao sistema imune e ao sistema cardiovascular, por estar associada ao colesterol HDL, bem como a mecanismos bioquímicos e fisiológicos (FOLLY et al. 2001; CORREIA e PERRY, 2010; MING et al., 2012).

## TILÁPIA DO NILO

A tilápia do Nilo pertence à família dos ciclídeos, é originária da bacia do rio Nilo, no leste da África e encontra-se amplamente difundida em países de clima tropical e subtropical (PINHEIRO et al., 2006). A espécie foi introduzida no Brasil em 1971, por intermédio do Departamento Nacional de Obras Contra a Seca (DNOCS) nos açudes do Nordeste, difundindo-se para todo o país (SIMÕES et al., 2007).

O início do desenvolvimento da piscicultura no Brasil foi quase todo baseado em conhecimentos técnicos e científicos externos que os técnicos traduziam e adaptavam às unidades governamentais de pesquisa ou em pisciculturas privadas. A existência desses pacotes tecnológicos de produção de espécies exóticas representou uma vantagem na sua criação em relação a espécies nativas (BALDISSEROTTO e GOMES, 2010).

A produção mundial de tilápia do Nilo tem aumentado em escala linear, sendo superada apenas pelo cultivo de carpas em ambientes de água doce. Entretanto, estima-se que em algumas décadas ela assuma a liderança devido ao aumento constante da sua produção em países asiáticos, que detêm mais de 80% da piscicultura mundial (FAO, 2014; MPA, 2014).

A disseminação da espécie está relacionada com diversas características zootécnicas desejáveis, como a precocidade, facilidade de reprodução (GAMA, 2008), qualidade e boa aceitação do filé (DE SOUZA e MARANHÃO, 2001), resistência ao manejo e variações climáticas (FERREIRA et al., 2011), além de rusticidade e boa conversão alimentar (RIGHETTI et al., 2011).

## REFERÊNCIAS

- AZAMBUJA, C. R.; MATTIAZZI, J.; RIFFEL, A. P. K.; FINAMOR, I. A.; GARCIA, L. O.; HELDWEIN, C. G.; HEINZMANN, B.; BALDISSEROTTO, B.; PAVANATO, M. A.; LLESUY, S. F. Effect of the essential oil of *Lippia alba* on oxidative stress parameters in silver catfish (*Rhamdia quelen*) subjected to transport. **Aquaculture**, v. 319, p. 156 - 161, 2011.

- 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.
- BALDISSEROTTO, B.; GOMES, L. C. Espécies nativas para piscicultura no Brasil – 2 ed. Santa Maria: **Ed da UFSM**. p. 521 - 540, 2010.
- BARCELLOS, L. J. G.; SOUZA, S. M. G.; WOEHL, V. M. Estresse em peixes: fisiologia da resposta ao estresse, causas e consequências (revisão). **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 26, p. 99 - 111, 2000.
- BECKER, A. G.; PARODI, T. V.; HELDWEIN, C. G.; ZEPPENFELD, C. 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.
- BITTENCOURT, F.; SOUZA, B. E.; BOSCOLO, W. R.; RORATO, R. R.; FEIDEN, A.; NEU, D. H. Benzocaína e eugenol como anestésicos para o quinguio (*Carassius auratus*). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 64, p. 1597 - 1602, 2012.
- CHO, G. K.; HEATH, D. Comparision of tricaine methanesulphonate (MS222) and clove oil anesthesia effects on the physiology of juvenile chinook salmon *Oncorhynchus tshawytscha* (Walbaum). **Aquaculture Research**, v. 31, p. 537 - 546, 2000.
- COOKE, S. J.; SUSKI, C. D.; OSTRAND, K. G.; TUFTS, B. L.; WAHL, D. H. Behavioral and physiological assessment of low concentration of clove oil anaesthetic for handling and transporting largemouth bass (*Micropterus salmoides*). **Aquaculture**, v. 239, p. 509 - 529, 2004.
- CORREIA, J. D.; PERRY, I. D. S. Modulação dietética da atividade da paraoxonase: revisão de estudos em humanos. **Revista Hospital das Clínicas de Porto Alegre**, v. 30, p. 271 - 278, 2010.
- COYLE, S. D.; DURBOROW, R. M.; TIDWELL, J. H. Anaesthetics in aquaculture. Texas: **SRAC Publications**, 6p, 2004.

- CUNHA, M. A.; de BARROS, F. M. C.; GARCIA, L. O.; 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.
- CUNHA, M. A.; DA 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.
- DANIEL, A. P.; VEECK, A. P. L.; KLEIN, B.; FERREIRA, L. F.; CUNHA, M. A.; PARODI, T. V.; ZEPPENFELD, C. C.; SCHMIDT, D.; CARON, B. O.; HEINZMANN, B. M.; BALDISSEROTTO, B.; EMANUELLI, T. Using the essential oil of *Aloysia triphylla* (L'Her.) Britton to sedate silver catfish (*Rhamdia quelen*) during transport improved the chemical and sensory qualities of the fish during storage in ice. **Journal of Food Science**, v. 79. p. 1205 - 1211, 2014.
- DE SOUZA, M. L. R.; MARANHÃO, T. C. F. Rendimento da carcaça, filé e subprodutos da filetagem da tilápia do nilo *Oreochromis niloticus* (L.), em função do peso corporal. **Acta Scientiarum, Zootechny**, v. 23, p. 897 - 901, 2001.
- FABBRI, E.; CAPUZZO, A.; MOON, T. W. The role of circulating catecholamines in the regulation of fish metabolism: An overview. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 120, p. 177 - 192, 1988.
- FAÇANHA, M. F.; GOMES, L. C. A eficácia do mentol como anestésico para tambaqui (*Colossoma macropomum*, Characiformes: Characidae). **Acta Amazônica**, v. 35, p. 71 - 75, 2005.
- FAO - FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION. Disponível em: <<http://www.fao.org>> Acesso em: 28 agosto 2015.
- FERREIRA, P. M. F.; BARBOSA, J. M.; SANTOS, E. L.; SOUZA, R. N.; SOUZA, S. R. Avaliação do consumo de oxigênio da tilápia do Nilo submetidas a diferentes estressores. **Revista Brasileira de Engenharia de Pesca**, v. 6, p. 56 - 62, 2011.
- FOLLY, E.; BASTOS, V. L. C.; ALVES, M. V.; BASTOS, J. C.; ATELLA, G. C. A high density lipoprotein from *Piaractus mesopotamicus*, pacu, (Osteichthyes,



- Characidae), is associated with paraoxonase activity. **Biochimie**, v. 83, p. 945 - 951, 2001.
- GAMA, C. S. A criação de tilápia no estado do Amapá como fonte de risco ambiental. **Acta Amazonica**, v. 38, p. 525 - 530, 2008.
- GIMBO, R. Y.; SAITA, M. V.; GONÇALVES, A. F. N.; TAKAHASHI, L. S. Diferentes concentrações de benzocaína na indução anestésica do Lambari do Rabo Amarelo (*Astyanax altiparanae*). **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 9, p. 350 - 357, 2008.
- GOMES, L. C.; CHIPPARI-GOMES, A. R.; LOPES, N. P.; ROUBACH, R.; ARAUJOLIMA, C.A.R. Efficacy of benzocaine as an anesthetic in juvenile tambaqui *Colossoma macropomum*. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 32, p. 426 - 431, 2001.
- GOMES, L. C.; ROUBACH, R.; ARAUJO-LIMA, C. A. R. M.; 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.
- GONÇALVES, A. F. N.; SANTOS, E. C. C.; FERNANDES, J. B. K.; TAKAHASHI, L. S. Mentol e eugenol como substitutos da benzocaína na indução anestésica de juvenis de pacu. **Acta Scientiarum Animal Sciences**, v. 30, p. 339 - 344, 2008.
- GRESSELER, L. T.; RIFFEL, A. P. K.; PARODI, T. V.; SACCOL, E. M. H.; KOAKOSKI, G.; COSTA, S. T.; PAVANATO, M. A.; HEINZMANN, B. M.; CARÓN, B.; SCHMIDT, D.; LLESUY, S. F.; BASCELLOS, L. J. G.; BALDISSEROTTO, B. Silver catfish (*Rhamdia quelen*) immersion anaesthesia with essential oil of *Aloysia triphylla* (L'Herit) Britton or tricaine methanesulfonate: effect on stress response and antioxidant status. **Aquaculture Research**, v. 45, p. 1061 - 1072, 2014.
- GUÉNETTE, S. A.; UHLAND, F. C.; HÉLIE, P.; BEAUDRY, F.; VACHON, P. Pharmacokinetics of eugenol in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, v. 266, p. 262 - 265, 2007.

- HAJEK, G. J.; KŁYSZEJKO, B.; DZIAMAN, R. The anaesthetic effect of clove oil on common carp, *Cyprinus carpio* l. **Acta ichthyologica et piscatoria**, v. 36 ,p. 93 - 97, 2006.
- HISANO, H.; ISHIKAWA, M. M.; FERREIRA, R. A.; BULGARELLI, A. L. A.; COSTA, T. R.; PADUA, S. B. Tempo de indução e de recuperação de dourados *Salminus brasiliensis* (Cuvier, 1816), submetidos a diferentes concentrações de óleo de cravo *Eugenia* sp.. **Acta Scientiarum Biological Sciences**, v. 30, p. 303 - 307, 2008.
- HOHLENWERGER, J. C. **Óleo essencial de *Lippia alba* no manejo e transporte de tilápia do nilo**. Janeiro de 2015. 60 f. Dissertação apresentada ao Programa de Pós graduação em Zootecnia, como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em Zootecnia, Salvador. Bahia. Brasil. 2015.
- INOUE, L.A.K.A.; NETO, C. S.; MORAES, G. Clove oil as anaesthetic for juveniles of matrinxã *Brycon cephalus* (Gunther, 1869). **Ciência Rural**, v. 33, p. 943 - 947, 2003.
- LORENZI, H.; MATOS, F. S. A. Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas. Nova Odessa: **Plantarum**. p. 486. 2002.
- MACHADO, B. F. T.; FERNANDES JÚNIOR, A. Óleos essenciais: Aspectos gerais e usos em terapias naturais. **Cadernos Acadêmicos**, v. 3, p. 105 - 127, 2011.
- MARKING, L. L.; MEYER, F. P. Are better anesthetics needed in fisheries? **Fisheries** v. 10, p. 2 - 5, 1985.
- MAZZAFERA, P. Efeito alelopático do extrato alcoólico do cravo-da-índia e eugenol. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 26, p. 231 - 238, 2003.
- MING, J.; XIE, J.; XU, P.; GE, X.; LIU, W.; YE, J. Effects of emodin and vitamin C on growth performance, biochemical parameters and two HSP70s mRNA expression of Wuchang bream (*Megalobrama amblycephala* Yih) under high temperature stress. **Fish Shellfish Immunology**, v. 32, p. 651 - 661, 2012.
- MPA - MINISTÉRIO DA PESCA E AQUICULTURA. Boletim estatístico da pesca e aquicultura. Disponível em: <<http://www.mpa.gov.br>> Acesso em: 28 agosto 2015.

- OBA, E. T.; MARIANO, W. S.; SANTOS, L. R. B. Estresse em peixes cultivados: agravantes e atenuantes para o manejo rentável. In: TAVARES-DIAS, M., **Manejo e Sanidade de Peixes em Cultivo**. Capítulo 8, Embrapa. 2009.
- PÁDUA, S. B.; PIETRO, P. S.; IGLESIAS FILHO, P. S.; ISHIKAWA, M. M.; HISANO, H. Mentol como anestésico para dourado (*Salminus brasiliensis*). **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 36, p. 143 - 148, 2010.
- PARODI, T. V.; CUNHA, M. A.; HELDWEIN, C. G.; SOUZA, D. M.; MARTINS, A. C.; GARCIA, L. O.; WASIELESKY JUNIOR, W.; MONSSERAT, J. M.; SCHIMIDT, D.; CARON, B.; HEINZMANN, B.; BALDISSEROTTO, B. The anesthetic efficacy of eugenol and the essential oils of *Lippia alba* and *Aloysia triphylla* in post-larvae and sub-adults of *Litopenaeus vannamei* (Crustacea, Penaeidae). **Comparative Biochemistry and Physiology Part C**, v. 155, p. 462 - 468, 2012.
- PARODI, T. V.; CUNHA, M. A.; BECKER, A. G.; ZEPPENFELD, C. C.; MARTINS, D. I.; KOAKOSKI, G.; BARCELLOS, L. G.; HEINZMANN, B. M.; BALDISSEROTTO, B. 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.
- PATEL, T.; ISHIUJI, Y.; YOSIPOVITCH, G. Menthol: A refreshing look this ancient compound. **American Academy of Dermatology**, v. 57, p. 873 - 878, 2007.
- PAULUS, D.; VALMORBIDA, R.; TOFFOLI, E.; NAVA, G.; PAULUS, E. Teor e composição química do óleo essencial e crescimento vegetativo de *Aloysia triphylla* em diferentes espaçamentos e épocas de colheita. **Revista Ceres**, v. 60, p. 301 - 305, 2013.
- PEDRAZZANI, A. S.; NETO, A. O. The anaesthetic effect of camphor (*Cinnamomum camphora*), clove (*Syzygium aromaticum*) and mint (*Mentha arvensis*) essential oils on clown anemonefish, *Amphiprion ocellaris* (Cuvier 1830). **Aquaculture Research**, v. 45, p. 1 - 8, 2014.

- PINHEIRO, L. M. S.; MARTINS, M. R.; PINHEIRO, L. A. S.; PINHEIRO, L. E. L. Rendimento industrial de filetagem de tilápia tailandesa (*Oreochromis* spp.). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 58, p. 257 - 262, 2006.
- RIBAS, L.; FLOS, R.; REIG, L.; MACKENZIE, S.; BARTON, B. A.; TORT, L. Comparison of methods for anaesthetizing Senegal sole (*Solea senegalensis*) before slaughter: Stress responses and final product quality. **Aquaculture**, v. 269, p. 250 - 258, 2007.
- RIGHETTI, J. S.; FURUYA, W. M.; GRACIANO, T. S.; VIDAL, L. V. O.; MICHELATO, M.; CONEJERO, C. I. Redução da proteína em dietas para tilápias-do-nilo por meio da suplementação de aminoácidos com base no conceito de proteína ideal. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 40, p. 469 - 476, 2011.
- ROSS, L. G.; ROSS, B. Anaesthetic and Sedative Techniques for Aquatic Animals. 3rd ed, **Blackwell Publishing Ltd**. 2008.
- ROUBACH, R.; GOMES, L. C.; FONSECA, F. A. L.; VAL, A. L. Eugenol as an efficacious anaesthetic for tambaqui, *Colossoma macropomum* (Cuvier). **Aquaculture Research**, v. 36, p. 1056 - 1061, 2005.
- SCHWERZ, L.; CARON, B. O.; MANFRON, P. A.; SCHMIDT, D.; ELLI, E. F. Biomassa e teor de óleo essencial em *Aloysia triphylla* (l'hérit) Britton submetida a diferentes níveis de reposição hídrica e à variação sazonal das condições ambientais. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais** (Impresso), 2015.
- SIMÕES, M. R.; RIBEIRO, C. F. A.; RIBEIRO, S. C. A.; PARK, K. J.; MURR, F. E. X. Composição físico-química, microbiológica e rendimento do filé de tilápia tailandesa (*Oreochromis niloticus*). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, p. 608 - 613, 2007.
- SIMÕES, L. N.; GOMES, L. C. Eficácia do mentol como anestésico para juvenis de tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 61, p. 613 - 620, 2009.
- SIMÕES, L. N.; GOMIDE, A. T. M.; ALMEIDA-VAL, V. M. F.; VAL, A. L.; GOMES, L. C. O uso do óleo de cravo como anestésico em juvenis avançados

- de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) durante o manejo: determinação da concentração e do tempo de exposição ideal e respostas de estresse. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v. 34, p. 175 - 181, 2012.
- 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.
- TEIXEIRA, E. G.; MOREIRA, A. G. L.; MOREIRA, R. L.; LIMA, F. R. S. Mentol como anestésico para diferentes classes de tamanho de tilápia do nilo. **Archives of Veterinary Science**, v. 16, p. 75 - 83, 2012.
- TONI, C.; MARTOS-SITCHA, J. A.; RUIZ-JARABO, I.; MANCERA, J. M.; MARTÍNEZ-RODRÍGUEZ, G.; PINHEIRO, C. G.; HEINZMANN, B. M.; BALDISSEROTTO, B. Stress response in silver catfish (*Rhamdia quelen*) exposed to the essential oil of *Hesperozygis ringens*. **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 41, p. 129 - 138, 2015.
- URBINATI, E. C.; ZANUZZO, F. S.; BILLER-TAKAHASHI, J. D. **Estresse e Sistema Imune em Peixes**. In: BALDISSEROTTO, B.; CYRINO, J. E. P.; URBINATI, E. C.(EDS). *Biologia e fisiologia de peixes neotropicais de água doce*. Jaboticabal: **FUNEP, UNESP**, p. 87 - 106, 2014.
- VELÍŠEC, J.; STEJSKAL, V.; KOU IL, J.; SVOBODOVÁ, Z. Comparison of the effects of four anaesthetics on biochemical blood profiles of perch. *Aquaculture Research*, v. 40, p. 354 - 361, 2009.
- VIDAL, L. V. O.; ALBINATI, R. C. B.; ALBINATI, A. C. L.; de LIRA, A. D.; DE ALMEIDA, T. R.; SANTOS, G. B. Eugenol como anestésico para a tilápia-do-nilo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 43, p. 1069 - 1074, 2008.
- ZEPPENFELD, C. C.; TONI, C.; BECKER, A. G.; MIRON, D. S.; PARODI, T. V.; HEINZMANN, B. M.; BARCELLOS, L. J. G.; KOAKOSKI, G.; ROSA, J. G. S.; LORO, V. L.; CUNHA, M. A.; BALDISSEROTTO, B. Physiological and biochemical responses of silver catfish, *Rhamdia quelen*, after transport in water with essential oil of *Aloysia triphylla* (L'Herit) Britton. **Aquaculture**, v. 418 - 419, p. 101 - 107, 2014.

## **CAPÍTULO 1**

---

Óleo essencial de *Aloysia triphylla* na indução anestésica, no manejo e na análise sensorial de tilápia do Nilo

Óleo essencial de *Aloysia triphylla* na indução anestésica, no manejo e na análise sensorial de tilápia do Nilo

### RESUMO

A concentração ideal de qualquer anestésico utilizado no manejo de peixes pode ser determinada com base nos tempos de indução e recuperação anestésica, dentre outros fatores. O trabalho teve como objetivo avaliar a eficácia do óleo essencial de *Aloysia triphylla* (OEAT) como anestésico no manejo de tilápia do Nilo. Os juvenis de tilápia do Nilo (n=72) foram imersos nas concentrações de 0 (grupo controle), 10, 20, 30, 40, 80, 150, 300 e 450  $\mu\text{L.L}^{-1}$  de OEAT para avaliação dos tempos de sedação, anestesia e recuperação anestésica. Após definição da dose anestésica de manejo, os juvenis foram divididos em dois grupos: anestesiados (300  $\mu\text{L.L}^{-1}$  de OEAT) e não anestesiados. Foram avaliados parâmetros plasmáticos de cortisol, glicose, paraoxonase e lactato, nos tempos 0, 1 e 4 h após o manejo. Para análise sensorial, os filés dos dois grupos foram oferecidos a 32 provadores para avaliação das características organolépticas (sabor e odor). Todas as concentrações induziram os juvenis de tilápia do Nilo à sedação. As concentrações de 80 a 450  $\mu\text{L.L}^{-1}$  de OEAT foram eficientes na indução à anestesia. Ocorreu redução significativa dos níveis plasmáticos de cortisol 1 h após o manejo nos indivíduos anestesiados com 300  $\mu\text{L.L}^{-1}$  de OEAT em relação ao grupo controle. E 4 h após o manejo nenhum dos parâmetros plasmáticos do grupo anestesiado diferiu significativamente do grupo controle. Não ocorreu alteração nas características organolépticas nos filés de tilápia submetidos à anestesia. A concentração de 300  $\mu\text{L.L}^{-1}$  do OEAT é recomendável no manejo de tilápia do Nilo por apresentar um bom tempo de indução e recuperação anestésica, ocasionar redução dos níveis plasmáticos de cortisol 1 h após o manejo e não influenciar o sabor e odor dos filés.

Palavras- chave: Sedação, Anestesia, Estresse, Cortisol, Características organolépticas.

Essential oil of *Aloysia triphylla* in anesthesia, handling and sensory evaluation of Nile tilapia

### ABSTRACT

The optimum concentration of any anesthetic used in the handling of fish can be determined based on induction and recovery times, among other factors. The study aimed to evaluate the effectiveness of essential oil of *Aloysia triphylla* (EOAT) as an anesthetic in the handling of Nile tilapia. Nile tilapia juveniles (n=72) were immersed in concentrations of 0 (control group), 10, 20, 30, 40, 80, 150, 300 and 450  $\mu\text{L.L}^{-1}$  EOAT to assess sedation, anesthesia and anesthetic recovery times. After setting the dose of anesthetic handling, juveniles were divided into two groups: anesthetized (300  $\mu\text{L.L}^{-1}$  EOAT) and not anesthetized. Parameters evaluated were plasma cortisol, glucose, lactate and paraoxonase, at 0, 1 and 4 h after the handling. For sensory analysis the fillets from both groups were offered to 32 tasters and evaluated for organoleptic characteristics (taste and odor). All concentrations induced the Nile tilapia juveniles with sedation. The concentrations 80-450  $\mu\text{L.L}^{-1}$  EOAT were effective in inducing anesthesia. There was a significant reduction in plasma cortisol levels 1 h after handling in anesthetized individuals with 300  $\mu\text{L.L}^{-1}$  EOAT in the control group. And 4 h after handling plasma parameters of anesthetized group has not changed significantly from the control group. There was no change in organoleptic characteristics in tilapia fillets undergoing anesthesia. The concentration of 300  $\mu\text{L.L}^{-1}$  EOAT is recommended in the handling of Nile tilapia to present a good time of anesthetic induction and recovery, causing reduction in plasma cortisol levels 1 h after handling and not affect the taste and odor of fillets.

Key words: Sedation, Anesthesia, Stress, Cortisol, Organoleptic characteristics.



## INTRODUÇÃO

O manejo de peixes em estações de piscicultura engloba diversas práticas como a pesagem, coleta de gametas, marcação, diagnóstico, tratamento, transporte e outros. Geralmente, é realizado de forma intensa e em curto período de tempo, necessitando da utilização de agentes anestésicos (KIESSLING et al. 2009). Em alguns casos, a anestesia torna-se indispensável em virtude da presença de raios duros nas nadadeiras que facilmente ocasionam ferimentos nos operadores, ou mesmo nos peixes, além de reduzir o estresse e proporcionar o mínimo sofrimento aos animais (SIMÕES e GOMES, 2009).

As principais substâncias sintéticas utilizadas na anestesia de peixes são triclaína metano sulfonato (MS-222), sulfato de quinaldina e fenoxietanol. Em geral, estas substâncias têm apresentado toxicidade e outros efeitos adversos, além de serem altamente custosas (GOMES et al. 2001; ROUBACH et al. 2005). Neste sentido, a busca por novas substâncias anestésicas é fundamental, em especial aquelas que não ofereçam riscos aos manipuladores e aos peixes, tenham baixo custo e sejam de fácil aquisição, como geralmente é o caso de óleos essenciais derivados de plantas (GUÉNETTE et al. 2007).

O estresse ocasionado pelo manejo pode favorecer o aparecimento de patógenos, doenças e até mesmo ocasionar mortalidade (INOUE et al. 2003). Entretanto, os peixes quando submetidos a algum agente estressor, passam por uma série de alterações fisiológicas, onde os níveis plasmáticos de glicose, lactato e cortisol são considerados bons indicadores não somente da condição destes animais, mas também dos seus mecanismos de suprimento de demanda energética durante a situação de estresse (URBINATI et al. 2014). Agentes anestésicos podem apresentar influência sobre a capacidade respiratória e os batimentos operculares em peixes, o que dificulta o suprimento de oxigênio para as células, e estimula a utilização do metabolismo anaeróbico como fonte energética, caracterizado pelo aumento dos níveis plasmáticos de lactato (MOREIRA et al. 2010 a).

*Aloysia triphylla* (L'Herit.) Britton, popularmente conhecida como cidrão ou erva luíza, pertence à família Verbenacea, é nativa da América e possui em sua

composição altos teores de óleos voláteis que apresentam propriedades aromáticas e sedativas (SCHWERZ et al. 2015). O uso do óleo essencial de *A. triphylla* (OEAT) como anestésico já foi estudado para o camarão (*Litopenaeus vannamei*) (PARODI et al. 2012) e jundiá (*Rhamdia quelen*) (PARODI et al. 2014; ZEPPENFELD et al. 2014), além de ser mais eficiente na redução do estresse e proteção oxidativa que o MS-222 para o jundiá (GRESSELER et al. 2014). Contudo nenhum estudo foi conduzido para tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*).

O objetivo deste trabalho foi avaliar a eficácia de OEAT para indução anestésica em tilápia do Nilo e seu efeito durante o estresse de manejo, considerando composição química do OEAT, sobrevivência, tempos de sedação e anestesia, parâmetros plasmáticos (glicose, cortisol, lactato e paraoxonase) e influência nas características organolépticas do filé dos exemplares de tilápia do Nilo.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Óleo essencial de *A. triphylla*

Folhas de *A. triphylla* (L'HER.) BRITTON foram cultivadas em Frederico Westphalen, RS, Brasil. O material testemunha encontra-se depositado no Herbário de Biologia da Universidade Federal de Santa Maria sob o número SMDB 11169.

A extração do óleo essencial foi realizada a partir das folhas frescas da planta por destilação a vapor por 2 h utilizando um aparelho do tipo Clevenger modificado. Neste método, o destilado é recolhido num tubo de vidro graduado e a fase aquosa é automaticamente reutilizada no balão de destilação (BRITISH PHARMACOPOEIA, 2007). As amostras de OEAT foram mantidas em - 4 °C em frascos de vidro âmbar até a realização da análise química por GC-MS, segundo Heldwein et al. (2012), e ensaios biológicos.

### Animais

Os juvenis de tilápia do Nilo linhagem GIFT, invertidos sexualmente, foram obtidos via Estação de Piscicultura de Bebedouro - CODEVASF, Petrolina, PE, Brasil.

Os peixes foram mantidos em tanque de alvenaria e alimentados 2 vezes ao dia com dieta comercial (320 g.Kg<sup>-1</sup> PB e 3500 kcal de energia digestível). Os parâmetros de qualidade da água: temperatura (24,12 °C), pH (6,22), condutividade (0,78 mS.cm<sup>-1</sup>) e oxigênio dissolvido (7,88 µL.L<sup>-1</sup>) foram monitorados através de uma sonda multiparâmetros HORIBA U-50. A alimentação foi interrompida 24 h antes do início dos experimentos. A metodologia deste experimento foi aprovada pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal da Bahia (n. 19/2014).

### **Indução e recuperação anestésica**

Foram utilizados 72 juvenis com peso de 16,05 ± 5,14 g e comprimento total de 9,62 ± 1,16 cm. O experimento foi conduzido na Estação de Piscicultura de Bebedouro – CODEVASF, Petrolina, PE, Brasil.

Os testes de indução anestésica foram realizados em aquários de 2 L, nos quais foram adicionadas diferentes concentrações de OEAT: 10, 20, 30, 40, 80, 150, 300 e 450 µL.L<sup>-1</sup>, primeiramente diluídos em etanol P.A.. Como controle os peixes foram submetidos a 4050 µL.L<sup>-1</sup> de etanol P.A. equivalente à quantidade utilizada na diluição da maior concentração do OEAT (450 µL.L<sup>-1</sup>). Também foi realizado um controle apenas com água.

Foram utilizados 8 juvenis para cada concentração testada (8 concentrações) além de 8 indivíduos no grupo controle (4050 µL.L<sup>-1</sup> de etanol) (n=72). Em cada aquário foram colocados dois peixes por vez, ao mesmo tempo, visando avaliação do tempo de sedação e anestesia no período máximo de 30 min, conforme Small (2003). Após este período, os juvenis foram transferidos para aquários (12 L) livres de anestésico onde foi avaliado o tempo de recuperação anestésica. Os peixes foram considerados recuperados quando apresentaram natação e comportamentos idênticos de quando observados nos tanques de manutenção. As avaliações foram realizadas sempre pelos mesmos observadores.

### **Manejo e Biometria**

Foram utilizados 48 juvenis de tilápia do Nilo ( $107,31 \pm 18,70$  g e  $18,52 \pm 1,25$  cm). Deste total, 24 animais foram individualmente anestesiados em aquário de 5 L com  $300 \mu\text{L.L}^{-1}$  de OEAT (concentração escolhida com base no experimento de indução e recuperação, ver Resultados).

Os peixes anestesiados foram submetidos à biometria (com exposição ao ar durante 1 minuto, conforme procedimentos de rotina em pisciculturas). Após o manejo, foi realizada coleta de sangue da veia caudal de 8 juvenis (tempo zero). Os 16 indivíduos restantes foram transferidos para 2 tanques de 250 L (8 indivíduos/tanque). Amostras de sangue de 8 indivíduos de um dos tanques foram realizadas 1 h após a anestesia e de outros 8 juvenis de outro tanque, 4 h após anestesia. O grupo controle (sem a adição do OEAT) foi submetido aos mesmos procedimentos do grupo teste (adaptado de Cunha et al. 2010).

### **Análises Plasmáticas**

Amostras de sangue (1 mL) foram coletadas a partir de seringas heparinizadas, transferidas para micro tubos e centrifugadas a 3000 rpm por 10 min para obtenção do plasma. O material foi mantido sob refrigeração constante e posteriormente enviado ao Laboratório de Extensão em Análises Clínicas do Instituto de Farmácia da UFBA, onde foram determinados níveis plasmáticos de cortisol, glicose, lactato e paraoxonase.

Para determinação do cortisol plasmático foi utilizado Kit Vidas® Cortisol S, em um equipamento mini-VIDAS, em um teste automatizado para determinação quantitativa de cortisol em soro, plasma ou urina, a partir da técnica ELFA (Enzyme Linked Fluorescent Assay) adaptado de Cruz et al. (2015).

Os níveis de glicose plasmática foram determinados pelo método enzimático a partir da glicose oxidase (GOD) / glicose peroxidase (POD), método colorimétrico utilizando equipamento BT 3000 (500 testes/hora; Wiener lab®, Rosario, Argentina). Neste mesmo equipamento foi realizada análise do lactato (Lactate, Wiener lab®, Rosario, Argentina).

A paraoxonase plasmática foi avaliada através da medição de p-nitrofenol de acordo com o método descrito por Senti et al. (2003). O resultado foi obtido através da multiplicação da variação média da absorbância por um fator. Fator = volume total da

reação (TRV) (mL) /  $405 \times$  valor da amostra (SV) (mL)  $\times$  espessura da cubeta (cm), em que  $405^{-1805} \text{ mL}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ . Portanto, a paraoxonase plasmática = factor  $\times$  abs / minuto.

### **Análise sensorial**

Os animais do grupo 0 h (tempo zero) foram mortos por secção da medula logo após a coleta de sangue e, então foram retirados os filés para análise sensorial. Foi realizada uma comparação, em relação as suas características organolépticas de sabor e odor, entre o grupo controle e o grupo exposto a  $300 \mu\text{L.L}^{-1}$  de OEAT (ver tópico anterior “Manejo”).

A análise sensorial foi adaptada de Costell (2002). Os filés foram cozidos em forno microondas (3 g/ 0,5 min) e oferecidas a 32 provadores não treinados. As amostras foram codificadas aleatoriamente e oferecidas juntamente com um controle oculto (comparação blind) para então serem avaliadas quanto aos atributos de sabor e odor. O grau de diferença de sabor e odor, em relação ao controle, foi avaliado através de uma escala de sete pontos, em que 1 = muito melhor que o controle; 2 = moderadamente melhor que o controle; 3 = levemente melhor que o controle; 4 = igual ao controle; 5 = levemente pior que o controle; 6 = moderadamente pior que o controle e; 7 = muito pior que o controle.

### **Análise Estatística**

Todos os dados foram expressos como média  $\pm$  SEM e foram submetidos ao teste de Levene para verificar a homocedasticidade das variâncias. A normalidade dos dados foi avaliada pelo teste de Shapiro-Wilk. Para o teste de sedação, indução e recuperação anestésica foi realizada análise de Kruskal–Wallis e testes de Mann–Whitney. Os níveis plasmáticos de cortisol, lactato, glicose e paraoxonase foram analisados por análise de variância (ANOVA) de duas vias seguido de teste post-hoc de Tukey. Para os dados de análise sensorial foi realizada análise de variância de uma via, seguido pelo teste t de Student. Para estas análises foi utilizado o Software Statistica (versão 7.0), com nível mínimo de significância de 95% ( $P < 0,05$ ).

## RESULTADOS

### Composição química do OEAT

Os componentes majoritários do OEAT foram geranial (28,97%) e neral (16,12%), cujo total representou 45,09% dos constituintes totais (= 49,9% do total identificado) (Tabela 1).

**Tabela 1** – Composição química do óleo essencial de *Aloysia triphylla*. TR: Tempo de retenção; IRC: Índice de Retenção Calculado; IRL: Índice de Retenção da Literatura (NIST, 2008; ADAMS, 2009).

N	TR	Composto	IRC	IRL	%
1	10,399	-pinene	931	933	0,36
2	12,762	hepten-2-one<6-methyl-5>	990	986	1,51
3	14,224	limonene	1027	1028	2,70
4	14,362	eucalyptol	1031	1030	3,04
5	15,07	-Z-ocimene	1049	1048	2,52
6	17,096	linalool	1100	1100	1,47
7	18,547	Não identificado	1139		2,23
8	18,943	Não identificado	1150		0,67
9	19,535	Não identificado	1166		2,07
10	19,94	rosefuranepoxide	1177	1177	1,37
11	20,202	Não identificado	1184		3,87
12	21,811	linalyl formate	1229	1216	3,99
13	22,255	neral	1242	1238	16,12
14	22,736	Z-geraniol	1256	1256	3,47
15	23,29	geranial	1272	1270	28,97
16	26,447	nerolacetate	1366	1365	0,35

17	26,785	-cubebene	1376	1386	0,32
18	27,054	geranylacetate	1385	1381	1,59
19	28,186	-caryophyllene	1420	1418	8,50
20	29,253	-caryophyllene	1455	1454	1,71
21	30,15	-curcumenene	1484	1485	3,79
22	30,582	bicyclogermacrene	1498	1500	1,19
23	31,035	-curcumenene	1513	1516	0,91
24	31,375	-cadinene	1525	1524	0,80
25	32,531	Não identificado	1564		0,76
26	32,967	spathulenol	1579	1576	1,99
27	33,138	caryophyllene oxide	1585	1583	1,83
28	34,76	-cadinol	1643	1642	1,87
<b>Total Identificado</b>					90,35

### **Indução e recuperação anestésica**

Todos os exemplares de tilápia do Nilo expostos ao OEAT se recuperaram e não foi observada mortalidade. Os peixes submetidos apenas ao etanol não apresentaram qualquer modificação no comportamento, bem como efeito de sedação e anestesia.

Todas as concentrações do OEAT avaliadas neste experimento (10 a 450  $\mu\text{L.L}^{-1}$ ) induziram a sedação dos juvenis de tilápia do Nilo, entretanto, não foi observada relação entre as concentrações do OEAT e o tempo de sedação (Tabela 2). Além disso, nas concentrações que os peixes alcançaram apenas a sedação, o tempo de recuperação foi inferior a 30 segundos.

Neste estudo, a anestesia foi alcançada nas concentrações acima de 80  $\mu\text{L.L}^{-1}$  de OEAT e observou-se que o aumento da concentração do OEAT implicou na redução do tempo para indução anestésica (Tabela 2). Relação inversa foi observada para o tempo de recuperação anestésica, em que o tempo de recuperação foi maior nos peixes

submetidos às maiores concentrações de OEAT. Não foi observada diferença significativa para os tempos de sedação e recuperação anestésica. Para os tempos de anestesia as concentrações de 300 e 450  $\mu\text{L.L}^{-1}$  apresentaram tempos estatisticamente menores em relação aos demais e não diferiram entre si (Tabela 2).

**Tabela 2** - Tempos de sedação, anestesia e recuperação anestésica em juvenis de tilápia do Nilo sob diferentes concentrações do óleo essencial de *Aloysia triphylla* ( $\mu\text{L.L}^{-1}$ ). Estágios de acordo com Small (2003). Os dados são expressos em média  $\pm$  SEM (n=8).

Concentração ( $\mu\text{L.L}^{-1}$ )	Indução (s)		Recuperação (s)
	Estágio 2 (Sedação)	Estágio 3 (Anestesia)	
10	45,42 $\pm$ 12,11 <sup>a</sup>	-	-
20	36,00 $\pm$ 9,26 <sup>a</sup>	-	-
30	55,33 $\pm$ 4,51 <sup>a</sup>	-	-
40	36,50 $\pm$ 9,69 <sup>a</sup>	-	-
80	41,00 $\pm$ 7,46 <sup>a</sup>	511,86 $\pm$ 102,63 <sup>a</sup>	149,67 $\pm$ 15,66 <sup>a</sup>
150	44,00 $\pm$ 4,45 <sup>a</sup>	328,00 $\pm$ 52,68 <sup>b</sup>	159,25 $\pm$ 24,45 <sup>a</sup>
300	39,75 $\pm$ 5,23 <sup>a</sup>	170,37 $\pm$ 21,15 <sup>c</sup>	186,14 $\pm$ 15,45 <sup>a</sup>
450	30,50 $\pm$ 2,71 <sup>a</sup>	163,00 $\pm$ 9,19 <sup>c</sup>	197,50 $\pm$ 15,84 <sup>a</sup>
Equações	*	$y = 512,79 - 0,90x$ $R^2=0,80$	$y = 140,29 + 0,13x$ $R^2= 0,97$

Letras diferentes na coluna indicam diferença significativa entre as concentrações pelos testes Tukey e Mann-Whitney.

Onde y = tempo (s) e x = concentração de óleo essencial de *Aloysia triphylla* ( $\mu\text{L.L}^{-1}$ ).

\* Ausência de regressão

### Manejo e Biometria

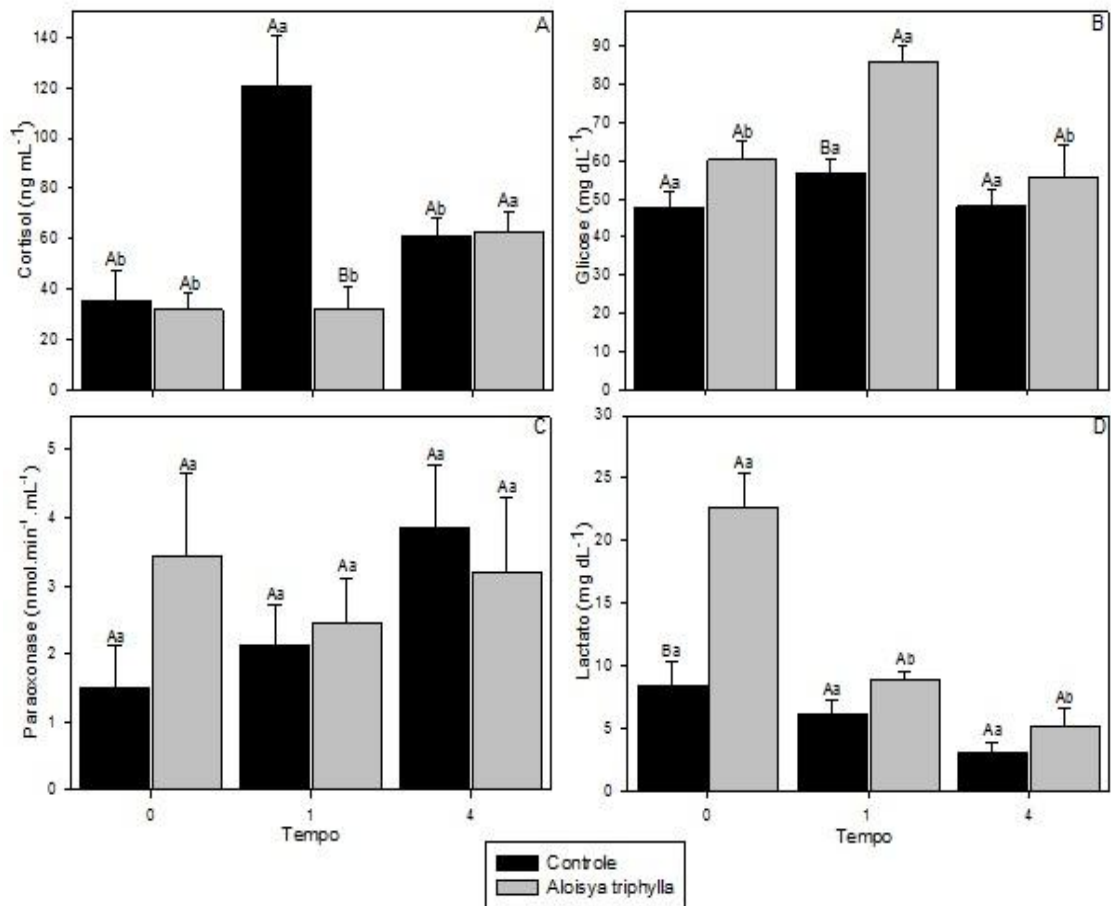
Os juvenis de tilápia do Nilo do grupo controle apresentaram níveis de cortisol plasmático significativamente maiores tanto em relação ao grupo anestesiado (300  $\mu\text{L.L}^{-1}$  de OEAT) 1 h após o manejo ( $P < 0,05$ ), quanto em relação aos demais indivíduos do grupo controle em 0 e 4 h após o manejo ( $P < 0,05$ ). Nos indivíduos anestesiados, os níveis de cortisol plasmáticos foram significativamente maiores 4 h após o estresse de manejo do que nos tempos anteriores (0 e 1h) ( $P < 0,05$ ), não diferindo do grupo controle neste tempo (Fig. 1 A).



Exemplares de tilápia do Nilo submetidos à anestesia com OEAT apresentaram níveis de glicose plasmática significativamente maiores no tempo de 1 h não só em relação aos exemplares do grupo controle no mesmo tempo, mas também em relação aos exemplares anestesiados nos tempos de 0 e 4 h após o manejo ( $P < 0,05$ ) (Fig. 1 B). Não foi observada influência do OEAT sob os níveis plasmáticos de paraoxonase (Figura 1 C).

Indivíduos anestesiados no tempo 0 h apresentaram valores significativamente maiores de lactato plasmático em relação não só ao grupo controle para o mesmo tempo, mas também em relação aos exemplares anestesiados nos tempos de 1 e 4 h após o estresse de manejo ( $P > 0,05$ ) (Fig. 1 D).

**Figura 1** - Efeito do óleo essencial de *Aloysia triphylla* ( $300 \mu\text{L.L}^{-1}$ ) sobre os níveis plasmáticos de cortisol (A), glicose (B), paraoxonase (C) e lactato (D) em juvenis de tilápia do Nilo após 0, 1 e 4 h de exposição ao manejo (1 min). Os dados são expressos em média  $\pm$  SEM ( $n=8$ ). Letras maiúsculas distintas indicam diferença significativa em um mesmo tempo. Letras minúsculas distintas indicam diferença significativa nos diferentes tempos para um mesmo tratamento (com ou sem anestésico) ( $P < 0,05$ ).



## **Avaliação sensorial**

A utilização do OEAT ( $300 \text{ uL.L}^{-1}$ ) na indução à anestesia em tilápia do Nilo não apresentou diferença significativa para o sabor ( $3,70 \pm 0,30$ ) e o odor ( $4,20 \pm 0,35$ ) dos filés em relação ao grupo controle ( $4,09 \pm 0,32$  e  $4,38 \pm 0,37$  para sabor e odor, respectivamente).

## **DISCUSSÃO**

### **Composição química do OEAT**

O citral é um monoterpene formado pela mistura dos isômeros geranial e neral (NUNES et al., 2005), justamente os dois componentes mais abundantes do OEAT deste estudo. Além disso, já foi reportado como o principal componente químico do OEAT em estudos prévios (DE FIGUEIREDO et al., 2004; PARODI et al., 2012; PAULUS et al., 2013; PARODI et al., 2013; DANIEL et al., 2014), assim como de outros óleos essenciais, a exemplo do capim limão (*Cymbopogon citratus*) (BASSOLÉ et al., 2011) e erva cidreira (*Lippia alba*) (SILVA et al., 2006).

As propriedades funcionais dos óleos essenciais são atribuídas aos principais constituintes da sua composição química e a interação entre esses constituintes (sinergismo ou antagonismo) devem ser bem estudadas com intuito de conhecer o real potencial destes óleos como sedativos e anestésicos (FRUTUOSO et al., 2013; BENOVIET et al., 2015). O citral já demonstrou efeito sedativo em jundiás (DANIEL et al., 2014), anestésico em camarão (PARODI et al., 2012), além de ser relacionado com ação tranquilizante, antiespasmódica, sedativa, indutora de redução da pressão e da frequência cardíaca em ratos (*Rattus norvegicus*) (DO VALE et al., 2002; MOREIRA et al., 2010 b). A este monoterpene atribui-se ainda atividade antibacteriana (PARODI et al., 2013) e melhoria das qualidades químicas e sensoriais do jundiá durante armazenamento em gelo (DANIEL et al., 2014).

## Indução e recuperação anestésica

A ausência de efeito anestésico pelo etanol como tratamento controle em experimentos de indução e recuperação anestésicos já foi reportada em estudos prévios em robalo (*Dicentrarchus labrax*), dourada (*Sparus aurata*), jundiá (PARODI et al., 2014; GRESSELER et al., 2014) e tilápia do Nilo (HOHLENWERGER, 2015).

Diferentemente do presente estudo, onde os tempos de sedação foram similares nas diferentes concentrações testadas, o aumento da concentração do OEAT (20 a 800  $\mu\text{L.L}^{-1}$ ) reduziu o tempo de sedação em jundiá (PARODI et al., 2014). Este comportamento também foi observado por Hohlenwerger (2015) no uso do óleo essencial de *L. alba* (10 a 500  $\mu\text{L.L}^{-1}$ ) em tilápia do Nilo. Além disso, outros agentes já foram reportados como sedativos em tilápia do Nilo, como o óleo de cravo (2 e 5  $\text{mg.L}^{-1}$ ) e benzocaína (20 e 40  $\text{mg.L}^{-1}$ ) (OLIVEIRA et al., 2009) contudo, os autores não informam se existiu uma relação entre o tempo de sedação e as concentrações testadas.

Parodi et al. (2014) verificaram que o OEAT possui uma ampla faixa de concentração eficaz (100 a 800  $\mu\text{L.L}^{-1}$ ) para anestesia em jundiá cinza e albino, assim como observado para tilápia do Nilo (80 a 450  $\mu\text{L.L}^{-1}$ ) no presente estudo. Com base nos tempos de anestesia (74 a 186,2 segundos) e de recuperação (143,1 a 393,2 segundos), a concentração ideal do eugenol para indução anestésica da tilápia do Nilo varia entre 75 e 120  $\mu\text{L.L}^{-1}$  (VIDAL et al., 2008; MOREIRA et al., 2010 a; DELBON e RANZANI PAIVA, 2012). Ainda para esta espécie, Mello et al. (2012) recomendam a utilização de 0,9  $\text{mL.L}^{-1}$  de 2-fenoxietanol e 125  $\text{mg.L}^{-1}$  de mentol por apresentarem tempo de anestesia e recuperação de aproximadamente 100 e 300 segundos, respectivamente. Outros anestésicos também são reportados para a tilápia do Nilo, dentre eles: MS – 222 (100 a 200  $\mu\text{L.L}^{-1}$ ); quinaldina (25 a 50  $\mu\text{L.L}^{-1}$ ) e benzocaína (25 a 100  $\mu\text{L.L}^{-1}$ ) (COYLE et al., 2004), entretanto os autores não definiram as melhores concentrações baseados nos tempo de anestesia e recuperação.

Em consonância ao presente estudo, Parodi et al. (2014) informaram que o aumento da concentração do OEAT reduziu o tempo de anestesia em jundiá e aumentou o tempo de recuperação anestésica. Adicionalmente, Delbon e Ranzani Paiva (2012) e Hohlenwerger (2015) com eugenol (40 a 120  $\text{mg.L}^{-1}$ ) e óleo essencial de *L. alba* (200 a

500  $\mu\text{L.L}^{-1}$ ), respectivamente, também verificaram que o aumento da concentração reduziu o tempo de indução anestésica em exemplares de tilápia do Nilo.

Em estudo realizado com OEAT (135 e 180  $\mu\text{L.L}^{-1}$ ) e MS-222 (150 e 300  $\mu\text{L.L}^{-1}$ ) em jundiá, Gresseler et al. (2014) relataram um maior tempo de recuperação anestésica (superior a 350 segundos) nos indivíduos anestesiados com o OEAT, e atribuíram esta característica à afinidade do óleo essencial ao tecido adiposo dos animais, o que retarda a eliminação através das brânquias, o que também explicaria os maiores tempos de recuperação anestésica nas maiores concentrações de OEAT dos exemplares de tilápia do Nilo anestesiados com OEAT do presente estudo.

Um agente anestésico ideal deve induzir a anestesia profunda em um período de 60 a 180 segundos e o tempo de recuperação ser inferior a 300 segundos (MARKING e MEYER, 1985), além de ocasionar o mínimo de hiperatividade e estresse ao animal (BAGHERI e IMANPOOR, 2011). Neste contexto, o OEAT enquadra-se como um anestésico ideal para a tilápia do Nilo nas maiores concentrações avaliadas neste experimento (300 e 450  $\mu\text{L.L}^{-1}$ ). Considerando que o uso de agentes anestésicos deve ser realizado com a mínima concentração eficiente evitando desperdício e maiores gastos econômicos (SOUZA et al., 2012), a concentração recomendada para o manejo de tilápia do Nilo é de 300  $\mu\text{L.L}^{-1}$  de OEAT.

### **Análises plasmáticas no manejo**

Os níveis plasmáticos de cortisol quantificados em tilápia do Nilo não estressadas, em estudos prévios variaram entre 16,43 e 65,67  $\text{ng.mL}^{-1}$  (VOLPATO e BARRETO, 2001; BISWAS et al., 2004; BARRETO e VOLPATO, 2006), similar ao encontrado no presente estudo nos tempos 0 e 4 h após o manejo.

Similar a este estudo, o OEAT (135 e 180  $\text{mg.L}^{-1}$ ) (GRESSELER et al., 2014) e óleo essencial de *L. alba* (300  $\text{mg.L}^{-1}$ ) (CUNHA et al., 2010 a) reduziram a liberação de cortisol plasmático em jundiás após o manejo pelos períodos de 30 e 60 segundos, respectivamente. A não liberação do cortisol estaria relacionada a um bloqueio de transmissão de informações sensoriais para o hipotálamo, e conseqüentemente inibindo uma série de modificações hormonais que caracterizam o estresse (IVERSEN et al., 2003). Estas respostas fisiológicas em defesa do organismo são estimuladas em sistema

de cascata e estão relacionadas principalmente a liberação de cortisol e catecolaminas, influenciando posteriormente nos mecanismos de suprimento energético requerido pelo indivíduo frente ao agente estressor (DINIZ e HONORATO, 2012).

Barcellos et al. (1999) observaram elevação dos níveis de cortisol plasmático 1 h após o manejo em exemplares de tilápia do Nilo não anestesiados em relação aos exemplares expostos a  $200 \mu\text{L.L}^{-1}$  de MS-222, corroborando com o presente estudo. Entretanto, 4 h após o manejo os níveis plasmáticos de cortisol dos indivíduos não anestesiados ainda foram maiores do que o grupo submetido à anestesia, o que diferiu do presente estudo.

A elevação dos níveis de glicose não está, necessariamente, relacionada à elevação do cortisol, embora o cortisol possa levar à hiperglicemia em virtude da síntese de glicose no fígado a partir de aminoácidos e ácidos graxos (gliconeogênese) (MARTINS et al., 2000; URBINATI et al., 2014). A anestesia do salmão (*Oncorhynchus tshawytscha*) por óleo de cravo e da dourada por MS-222, 2-fenoxietanol, sulfato de quinaldina e benzocaína ocasionaram valores significativamente maiores no teor de glicose plasmática em relação ao grupo controle 1 h após anestesia (CHO e HEATH, 2000; ORTUÑO et al., 2002), corroborando com o presente trabalho.

Em estudos prévios, os níveis de glicose plasmática para a tilápia do Nilo não estressadas variaram entre 30 a  $72 \text{ mg.dL}^{-1}$  (DERIGGI et al., 2006; ARENAL et al., 2012; VERAS et al., 2013). Os valores plasmáticos de glicose dos exemplares de tilápia do Nilo deste estudo se encontram dentro desta faixa, exceto para o tempo de 1 h após o manejo nos exemplares anestesiados com  $300 \mu\text{L.L}^{-1}$  de OEAT. Deriggi et al. (2006) observaram elevação da glicose plasmática de tilápias do Nilo anestesiadas com eugenol ( $20$  e  $80 \text{ mg.L}^{-1}$ ) após o manejo. Ainda neste estudo, não ocorreu diferença significativa entre os níveis plasmáticos de glicose 6 h após o manejo, evidenciando que após este período, a glicose tenha retornado aos níveis observados no grupo controle, o que também foi observado no presente estudo, entretanto em um período menor (4 h).

Paraoxonase é importante para proteção do organismo contra o estresse oxidativo e previne danos ao sistema imune (Correia e Perry, 2010; Ming et al., 2012). Folly et al. (2001), em estudo com pacu (*Piaractus mesopotamicus*), verificou a associação da paraoxonase com o colesterol HDL, assim como a mecanismos

bioquímicos e fisiológicos relacionados à proteção do sistema cardiovascular. Karatas e Kocaman (2014) avaliaram a suscetibilidade da truta comum (*Salvelinus fontinalis*) a danos oxidativos após o procedimento de manejo e verificaram que altos níveis plasmáticos de paraoxonase (13,9 a 17,8 U.mL<sup>-1</sup>) podem ser importantes na prevenção de danos aos tecidos e células. Em nosso estudo, o OEAT (300 µL.L<sup>-1</sup>) não implicou em mecanismos protetores relacionados a paraoxonase plasmática nos exemplares de tilápia do Nilo anestesiados ou não.

O lactato é considerado uma das substâncias gliconeogênicas mais importantes para os peixes, tornando-se fonte de glicose sanguínea para estes indivíduos (SILVEIRA et al., 2009). Os níveis mais elevados de lactato no tempo 0 h nos exemplares anestesiados possivelmente se refletiram nos valores de glicose significativamente maiores em relação ao grupo controle 1 h após o estresse de manejo. Adicionalmente, a utilização de anestésicos pode reduzir a capacidade respiratória do peixe e ocasionar uma demanda energética superior que a sustentável pelo metabolismo aeróbio, resultando em elevação dos níveis plasmáticos de lactato por via anaeróbica (IVERSEN et al., 2003). Isso pode ter ocorrido neste estudo logo após a exposição ao OEAT (tempo 0 h). Elevação dos níveis plasmáticos de lactato relacionado ao comprometimento da capacidade respiratória pela ação de anestésico também foi reportada por Toni et al. (2015) na avaliação do óleo essencial de *Hesperozygis ringens* (30 e 50 µL.L<sup>-1</sup>) em jundiás, corroborando com o presente estudo.

Uma hiperglicemia relacionada à elevação dos níveis de lactato plasmático também foi reportada em exemplares de tambaqui (*Colossoma macropomum*) anestesiados com eugenol (60 µL.L<sup>-1</sup>) no tempo 0 h pós manejo (Inoue et al. 2011). Por outro lado, Inoue et al. (2004), observaram redução dos níveis da lactato em matrixã (*Brycon cephalus*) anestesiados com benzocaína (60 µL.L<sup>-1</sup>) e fenoxietanol (600 µL.L<sup>-1</sup>) no tempo 0 h após o manejo, demonstrando que a elevação do lactato plasmático depende da espécie, anestésico e dosagem utilizada.

### **Análise sensorial**

A manutenção da qualidade organoléptica do filé de peixe é um fator de extrema importância na escolha e recomendação de um anestésico eficaz. Inclusive, a presença

de resíduos anestésicos pode implicar na rejeição do filé pelos consumidores (Ribas et al., 2007), o que não ocorreu no presente estudo segundo os resultados das avaliações de sabor e odor. Cunha et al. (2010 a) verificaram esta rejeição com a utilização do eugenol ( $50 \mu\text{L.L}^{-1}$ ), que influenciou negativamente o sabor do filé de jundiá. Por outro lado, similar ao presente estudo, Cunha et al. (2010 b) demonstraram que o óleo essencial de *L. alba* na concentração de  $300 \text{ mg. L}^{-1}$  não alterou o odor e o sabor do filé de jundiá.

Além disso, Daniel et al. (2014) demonstraram que a utilização do OEAT ( $40 \mu\text{L.L}^{-1}$ ) durante o transporte, antes do abate de jundiá implicou no atraso de perda de frescor e aumento da vida de armazenamento em gelo, além de melhorar o bem estar do animal, o que demonstra o potencial do OEAT na manutenção da qualidade do pescado.

## CONCLUSÕES

O OEAT é eficaz como sedativo e anestésico para juvenis de tilápia do Nilo. A dosagem de  $300 \mu\text{L.L}^{-1}$  do OEAT no manejo é recomendada por apresentar tempo satisfatório de anestesia e recuperação anestésica, além de reduzir os níveis de cortisol plasmático 1 h após o manejo, sem alterar as características organolépticas (sabor e odor) do filé.

## REFERÊNCIAS

- ADAMS, R. P. Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry. 4 ed. Illinois: **Allured Publishing Corporation**, 2009.
- ARENAL, A.; MARTÍN, L.; CASTILLO, N. M.; DE LA TORRE, D.; TORRES, U.; GONZÁLEZ, R. Aqueous extract of *Ocimum tenuiflorum* decreases levels of blood glucose in induced hyperglycemic tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, v. 5, p. 634 - 637, 2012.
- BAGHERI, T.; IMANPOOR, M. R. The efficacy, physiology responses and hematology of Persian sturgeon (*Acipenser persicus*) to clove oil as an anesthetic agent. **Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**. v. 11, p. 477 - 483, 2011.

- BARCELLOS, L. J. G.; NICOLAIEWSKY, S.; DE SOUZA, S. M. G.; LULHIER, F. Plasmatic levels of cortisol in the response to acute stress in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.), previously exposed to chronic stress. **Aquaculture Research**, v. 30, p. 437 - 444, 1999.
- BARRETO, R. E.; VOLPATO G. L. Stress responses of the fish Nile tilapia subjected to electroshock and social stressors. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 39, p. 1605 - 1612, 2006.
- BENOVIT, S. C.; SILVA, L. L.; SALBEGO, J.; LORO, V. L.; MALLMANN, C. A.; BALDISSEROTTO, B.; FLORES, E. M. M.; HEINZMANN, B. M. Anesthetic activity and bio-guided fractionation of the essential oil of *Aloysia gratissima* in silver catfish *Rhamdia quelen*. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 87, 2015.
- BASSOLÉ, I. H. N.; LAMIEN-MEDA, A.; BAYALA, B.; OBAME, L. C.; ILBOUDO, A. J.; FRANZ, C. Chemical composition and antimicrobial activity of *Cymbopogon citratus* and *Cymbopogon giganteus* essential oils alone and in combination. **Phytomedicine**, v.18, p. 1070 - 1074, 2011.
- BISWAS, A.; MAITA, M.; YOSHIZAKI, G.; TAKEUCHI, T. Physiological responses in Nile tilapia exposed to different photoperiod regimes. **Journal of Fish Biology**, v. 65, p. 811 - 821, 2004.
- BRITISH PHARMACOPOEIA COMMISSION. **British Pharmacopoeia**. 5. ed. London: The Stationery Office, 2007.
- CHO, G. K.; HEATH, D. Comparision of tricaine methanesulphonate (MS222) and clove oil anesthesia effects on the physiology of juvenile chinook salmon *Oncorhynchus tshawytscha* (Walbaum). **Aquaculture Research**, v. 31, p. 537 - 546, 2000.
- CORREIA, J. D.; PERRY, I. D. S. Modulação dietética da atividade da paraoxonase: revisão de estudos em humanos. **Revista Hospital das Clínicas de Porto Alegre**, v. 30, p. 271 - 278, 2010.
- COSTELL, E. A comparison of sensory methods in quality control. **Food Quality and Preference**, v. 13, p. 341 - 353, 2002.



- COYLE, S. D.; DURBOROW, R. M.; TIDWELL, J. H. Anaesthetics in aquaculture. Texas: **SRAC Publications**, 6p, 2004.
- CRUZ, A. L.; PRADO, T. M.; MACIEL, L. A. S.; COUTO, R. D. Environmental effects on the gills and blood of *Oreochromis niloticus* exposed to rivers of Bahia, Brazil. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 111, p. 23 - 31, 2015.
- CUNHA, M. A.; BARROS, F. M. C.; GARCIA, L. O.; 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, 2010a.
- CUNHA, M. A.; ZEPPENFELD, C. C.; GARCIA, L. O.; LORO, V. L.; FONSECA, M. B.; EMANUELLI, T.; VEECK, A. P. L.; COPATTI, C. E.; BALDISSEROTTO, B. Anesthesia of silver catfish with eugenol: time of induction, cortisol response and sensory analysis of fillet. **Ciência Rural**, v. 40, p. 2107 - 2114, 2010b.
- DANIEL, A. P.; VEECK, A. P. L.; KLEIN, B.; FERREIRA, L. F.; CUNHA, M. A.; PARODI, T. V.; ZEPPENFELD, C. C.; SCHMIDT, D.; CARON, B. O.; HEINZMANN, B. M.; BALDISSEROTTO, B.; EMANUELLI, T. Using the Essential Oil of *Aloysia triphylla* (L'Her.) Britton to Sedate Silver Catfish (*Rhamdia quelen*) during Transport Improved the Chemical and Sensory Qualities of the Fish during Storage in Ice. **Journal of Food Science**, v. 79, p. 1205 - 1211, 2014.
- DE FIGUEIREDO, R. O.; STEFANINI, M. B.; MING, L. C.; MARQUES, M. O. M.; FACANALI, R. Essential oil composition of *Aloysia triphylla* (L'HERIT) britton leaves cultivated in Botucatu, São Paulo, Brazil. **Acta horticulturae**, v. 629, p. 131 - 134, 2004.
- DELBON M. C.; RANZANI PAIVA, M. J. T. Eugenol em juvenis de tilápia do nilo: concentrações e administrações sucessivas **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 38, p. 43 - 52, 2012.
- DERIGGI-PISANI, G. F.; INOUE, L. A.; MORAES, G. Stress responses to handling in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* Linnaeus): assessment of eugenol as an

- alternative anesthetic. **Acta Scientiarum Biological Sciences**, v. 28, p. 269 - 274, 2006.
- DE SOUZA, M. L. R.; MARANHÃO, T. C. F. Rendimento da carcaça, filé e subprodutos da filetagem da tilápia do nilo *Oreochromis niloticus* (L.), em função do peso corporal. **Acta Scientiarum, Zootechny**, v. 23, p. 897 - 901, 2001.
- DINIZ, N. M.; HONORATO, C. A. Algumas alternativas para diminuir os efeitos do estresse em peixes de cultivo (Revisão). **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR**, v. 15, p. 149 - 154, 2012.
- DO VALE, T. G.; FURTADO, E. C.; SANTOS, J. G. JR; VIANA, G. S. Central effects of citral, myrcene and limonene, constituents of essential oil chemotypes from *Lippia alba* (Mill.) n.e. Brown. **Phytomedicine**, v. 9, p. 709 - 714, 2002.
- FAO - FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION. Disponível em: <<http://www.fao.org>> Acesso em: 28 agosto 2015.
- FOLLY, E.; BASTOS, V. L. C.; ALVES, M. V.; BASTOS, J. C.; ATELLA, G. C. A high density lipoprotein from *Piaractus mesopotamicus*, pacu, (Osteichthyes, Characidae), is associated with paraoxonase activity. **Biochimie**, v. 83, p. 945 - 951, 2001.
- FRUTUOSO, A. E.; NASCIMENTO, T. N.; COELHO, E. L.; LEMOS, T. L. G.; TEIXEIRA, D. M. A. Óleos essenciais aplicados em alimentos: uma revisão. **Revista Brasileira de Pesquisa em Alimentos**, v. 4, p. 69 - 81, 2013.
- GOMES, L. C.; CHIPARI-GOMES, A. R.; LOPES, N. P.; ROUBACH, R.; ARAUJO LIMA, C. A. R. Efficacy of benzocaine as an anesthetic in juvenile tambaqui *Colossoma macropomum*. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 32, p. 426 - 431, 2001.
- GRESSELER, L. T.; RIFFEL, A. P. K.; PARODI, T. V.; SACCOL, E. M. H.; KOAKOSKI, G.; COSTA, S. T.; PAVANATO, M. A.; HEINZMANN, B. M.; CARÓN, B.; SCHMIDT, D.; LLESUY, S. F.; BASCELLOS, L. J. G.; BALDISSEROTTO, B. Silver catfish (*Rhamdia quelen*) immersion anaesthesia with essential oil of *Aloysia triphylla* (L'Herit) Britton or tricaine

- methanesulfonate: effect on stress response and antioxidant status. **Aquaculture Research**, v. 45, p. 1061 - 1072, 2014.
- GUÉNETTE, S. A.; UHLAND, F. C.; HÉLIE, P.; BEAUDRY, F.; VACHON, P. Pharmacokinetics of eugenol in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, v. 266, p. 262 - 265, 2007.
- HELDWEIN, C. G.; SILVA, L. L.; RECKZIEGEL, P.; BARROS, F. M. C.; BÜRGER, M. E.; BALDISSEROTTO, B.; MALMANN, C. A.; SCHMIDT, D.; CARON, B. O.; HEINZMANN, B. M. Participation of GABAergic system in the anesthetic effect of the essential oil of *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 45, p. 436 - 443, 2012.
- HOHLENWERGER, J. C. **Óleo essencial de *Lippia alba* no manejo e transporte de tilápia do nilo**. Janeiro de 2015. 60 f. Dissertação apresentada ao Programa de Pós graduação em Zootecnia, como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em Zootecnia, Salvador. Bahia. Brasil. 2015.
- INOUE, L. A. K. A.; NETO, C. S.; MORAES, G. Clove oil as anaesthetic for juveniles of matrinxã *Brycon cephalus* (Gunther, 1869). **Ciência Rural**, v. 33, p. 943 - 947, 2003.
- INOUE, L. A. K. A.; HACKBARTH, A.; MORAES, G. Assessment of 2-phenoxyethanol and benzocaine as anesthetics for field procedures in matrinxã (*Brycon cephalus*). **Biodiversidade Pampeana**, v. 2, p. 10 - 15, 2004.
- INOUE, L. A. K. A.; BOIJINK, C. L.; RIBEIRO, P. T.; SILVA, A. M. D.; AFFONSO, E. G. Avaliação de respostas metabólicas do tambaqui exposto ao eugenol em banhos anestésicos. **Acta Amazonica**, v. 41, p. 327 - 332, 2011.
- IVERSEN, M.; FINSTAD, B.; MCKINLEY, R. S.; ELIASSEN, R. A. The efficacy of metomidate, clove oil, Aqui-Sk and Benzoak® as anaesthetics in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) smolts, and their potential stress-reducing capacity. **Aquaculture**, v. 221, p. 549 - 566, 2003.
- KARATAS, T.; KOCAMAN, E. M. Susceptibility to oxidative damage in wild and cultured Brook Trouts (*Salvelinus Fontinalis* Mitchill, 1815). **International Journal of Fisheries and Aquatic Studies**, v. 2, p. 180 - 183, 2014.

- KIESSLING, A.; JOHANSSON, D.; ZAHL, I. H.; SAMUELSEN, O. B. Pharmacokinetics, plasma cortisol and effectiveness of benzocaine, MS-222 and isoeugenol measured in individual dorsal aorta-cannulated Atlantic salmon (*Salmo salar*) following bath administration. **Aquaculture**, v. 286, p. 301 - 308, 2009.
- MARKING, L. L.; MEYER, F. P. Are better anesthetics needed in fisheries? **Fisheries** v. 10, p. 2 - 5, 1985.
- MARTINS, M. L.; MORAES, F. R.; MORAES, J. R. E.; MALHEIROS, E. B. Falha na resposta do cortisol ao estresse por captura e por carragenina em *Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887 (Osteichthyes: Characidae). **Acta Scientiarum**, v. 22, p. 545 - 552, 2000.
- MELLO, R. A.; COSTA, L. S.; OKAMURA, D.; ARAÚJO, F. G.; RIBEIRO, P. A. P.; CORRÊA, F. M.; ROSA, P. V. Avaliação de 2-fenoxietanol e mentol como agentes anestésicos em tilápias. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 38, p. 53 - 59, 2012.
- MING, J.; XIE, J.; XU, P.; GE, X.; LIU, W.; YE, J. Effects of emodin and vitamin C on growth performance, biochemical parameters and two HSP70s mRNA expression of Wuchang bream (*Megalobrama amblycephala* Yih) under high temperature stress. **Fish Shellfish Immunology**, v. 32, p. 651 - 661, 2012.
- MOREIRA, A. G. L.; TEIXEIRA, E. G.; CARREIRO, C. R. P.; MOREIRA, R. L. Eficácia do eugenol extraído da planta *Eugenia aromatica* como anestésico para realização de biometrias em adultos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Acta Scientiarum Animal Sciences**, v. 32, p. 419 - 423, 2010 a.
- MOREIRA, F. V.; BASTOS, J. F. A.; SANTOS, M. R. V.; BLANK, A. F.; ALVES, P. B. Chemical composition and cardiovascular effects induced by the essential oil of *Cymbopogon citratus* DC. Stapf, Poaceae, in rats. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, p. 904 - 909, 2010 b.
- NIST/EPA/NIH mass spectral library and search/analysis programs. Hoboken: J. Wiley and Sons; 2008.
- NUNES, F. M. N.; VELOSO, M. C. C.; PEREIRA, P. A. P.; ANDRADE, J. B. Gas-phase ozonolysis of the monoterpenoids (S)-(+)-carvone, (R)-( )-carvone, ( )-

- carveol, geraniol and citral. **Atmospheric Environment**, v. 39, p. 7715 - 7730, 2005.
- OLIVEIRA, J. R.; CARMO, J. L.; OLIVEIRA, K. K. C.; SOARES, M. C. F. Cloreto de sódio, benzocaína e óleo de cravo-da-índia na água de transporte de tilápia-donilo. **Brazilian Journal of Animal Science**, v. 38, p. 1163 - 1169, 2009.
- ORTUÑO, J.; ESTEBAN, M. A.; MESEGUER, J. Effects of four anaesthetics on the innate immune response of gilthead seabream (*Sparus aurata* L.). **Fish & Shellfish Immunology**, v. 12, p. 49 - 59, 2002.
- PARODI, T. V.; CUNHA, M. A.; HELDWEIN, C. G.; DE SOUZA, D. M.; MARTINS, Á.C.; GARCIA, L. DE O.; JUNIOR, W. W.; MONSERRAT, J. M.; SCHMIDT, D.; CARON, B. O.; HEINZMANN, B.; BALDISSEROTTO, B. The anesthetic efficacy of eugenol and the essential oils of *Lippia alba* and *Aloysia triphylla* in post-larvae and sub-adults of *Litopenaeus vannamei* (Crustacea, Penaeidae). **Comparative Biochemistry and Physiology. Part C: Toxicology & Pharmacology**, v. 155, p. 462 - 468, 2012.
- PARODI, T. V.; VARGAS, A. P. C.; KREWER, C.; FLORES, E. M. M.; BALDISSEROTTO, B.; HEINZMANN, B. M.; OLIVEIRA, J. V.; POPIOLSKI, M. S.; MINOZZO, M. Chemical composition and antibacterial activity of *Aloysia triphylla* (L'Hérit) Britton extracts obtained by pressurized CO extraction. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 56, p. 283 - 292, 2013.
- PARODI, T. V.; CUNHA, M. A.; BECKER, A. G.; ZEPPENFELD, C. C.; MARTINS, D. I.; KOAKOSKI, G.; BARCELLOS, L. G.; HEINZMANN, B. M.; BALDISSEROTTO, B. 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.
- PAULUS, D.; VALMORBIDA, R.; TOFFOLI, E.; NAVA, G.; PAULUS, E. Teor e composição química do óleo essencial e crescimento vegetativo de *Aloysia triphylla* em diferentes espaçamentos e épocas de colheita. **Revista Ceres**, v. 60, p. 301 - 305, 2013.

- RIBAS, L.; FLOS, R.; REIG, L.; MACKENZIE, S.; BARTON, B. A.; TORT, L. Comparison of methods for anaesthetizing Senegal sole (*Solea senegalensis*) before slaughter: Stress responses and final product quality. **Aquaculture**, v. 269, p. 250 - 258, 2007.
- ROUBACH, R.; GOMES, L. C.; FONSECA, F. A. L.; VAL, A. L. Eugenol as an efficacious anaesthetic for tambaqui, *Colossoma macropomum* (Cuvier). **Aquaculture Research**, v. 36, p. 1056 - 1061, 2005.
- SCHWERZ, L.; CARON, B. O.; MANFRON, P. A.; SCHMIDT, D.; ELLI, E. F. Biomassa e teor de óleo essencial em *Aloysia triphylla* (l'hérit) Britton submetida a diferentes níveis de reposição hídrica e à variação sazonal das condições ambientais. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais** (Impresso), 2015.
- SENTI, M.; TOMAS, M.; FITO, M.; WEINBRENNER, T.; COVAS, M. I.; SALA, J.; MASIÁ, R.; MARRUGA, T. J. Antioxidant paraoxonase 1 activity in the metabolic syndrome. **Journal of Clinical Endocrinology e Metabolism**, v. 88, p. 422 - 5426, 2003.
- SILVA, N. A.; OLIVEIRA, F. F.; COSTA, L. C. B.; BIZZO, H. R.; OLIVEIRA, R. A. Caracterização química do óleo essencial da erva cidreira (*Lippia alba* (Mill.) N. E. Br.) cultivada em Ilhéus na Bahia. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 8, p. 52 - 55, 2006.
- SILVEIRA, U. S.; LOGATO, P. V. R.; PONTES, E. C. Utilização e metabolismo dos carboidratos em peixes. **Revista Eletrônica Nutritime**, v. 6, p. 817 - 836, 2009.
- SIMÕES, L. N.; GOMES, L. C. Eficácia do mentol como anestésico para juvenis de tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 61, p. 613 - 620, 2009.
- 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.
- SOUZA, R. A. R.; CARVALHO, C. V. A.; NUNES, F. F.; SCOPEL, B. R.; GUARIZI, J. D.; TSUZUKI, M. Y. Efeito comparativo da benzocaína, mentol e eugenol como anestésicos para juvenis de robalo peva. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 38, p. 247 - 255, 2012.

- TONI, C.; MARTOS-SITCHA, J. A.; RUIZ-JARABO, I.; MANCERA, J. M.; MARTÍNEZ-RODRÍGUEZ, G.; PINHEIRO, C. G.; HEINZMANN, B. M.; BALDISSEROTTO, B. Stress response in silver catfish (*Rhamdia quelen*) exposed to the essential oil of *Hesperozygis ringens*. **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 41, p. 129 - 138, 2015.
- URBINATI, E. C.; ZANUZZO, F. S.; BILLER-TAKAHASHI, J. D. **Estresse e Sistema Imune em Peixes**. In: BALDISSEROTTO, B.; CYRINO, J. E. P.; URBINATI, E. C.(EDS). *Biologia e fisiologia de peixes neotropicais de água doce*. Jaboticabal: **FUNEP, UNESP**, p. 87 - 106, 2014.
- VERAS, G. C.; MURGAS, L. D. S.; ZANGERONIMO, M. G.; ROSA, P. V.; LEON, J. A. S.; SALARO, A. L. Fotoperíodo sobre parâmetros fisiológicos relacionados ao estresse em alevinos de tilápia-do-nylo. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 65, p.1434 - 1440, 2013.
- VIDAL, L. V. O.; ALBINATI, R. C. B.; ALBINATI, A. C. L.; de LIRA, A. D.; DE ALMEIDA, T. R.; SANTOS, G. B. Eugenol como anestésico para a tilápia-do-nylo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.43, p.1069 - 1074, 2008.
- VOLPATO, G. L.; BARRETO, R. E. Environmental blue light prevents stress in the fish Nile tilapia. **Brazilian journal of medical and biological research**, v. 34, p. 1041 - 1045, 2001.
- ZEPPENFELD, C. C.; TONI, C.; BECKER, A. G.; MIRON, D. S.; PARODI, T. V.; HEINZMANN, B. M.; BARCELLOS, L. J. G.; KOAKOSKI, G.; ROSA, J. G. S.; LORO, V. L.; CUNHA, M. A.; BALDISSEROTTO, B. Physiological and biochemical responses of silver catfish, *Rhamdia quelen*, after transport in water with essential oil of *Aloysia triphylla* (L'Herit) Britton. **Aquaculture**, v. 418 - 419, p. 101 - 107, 2014.

## CAPÍTULO 2

---

Óleo essencial de *Aloysia triphylla* no transporte de tilápia do Nilo:  
frequência ventilatória, qualidade da água, parâmetros iônicos e  
plasmáticos.



Óleo essencial de *Aloysia triphylla* no transporte de tilápia do Nilo: frequência ventilatória, qualidade da água, parâmetros iônicos e plasmáticos.

### RESUMO

O uso de sedativos no transporte de peixes reduz a taxa metabólica e o estresse dos indivíduos, além de contribuir na manutenção da qualidade de água. O trabalho teve como objetivo avaliar o óleo essencial de *Aloysia triphylla* (OEAT) como sedativo no transporte de tilápia do Nilo. Os juvenis de tilápia do Nilo (n=180) foram divididos em três tratamentos (3 repetições cada): 0 (controle), 20 e 30  $\mu\text{L.L}^{-1}$  de OEAT adicionados às embalagens de transporte (15 indivíduos por embalagem) por 8 horas. Avaliou-se a qualidade de água (oxigênio dissolvido, temperatura, condutividade, pH, alcalinidade, dureza, amônia total, amônia não ionizada e nitrito), íons da água ( $\text{Cl}^-$ ,  $\text{Na}^+$  e  $\text{K}^+$ ) e parâmetros plasmáticos (cortisol, glicose, paraoxonase e lactato). Em outro experimento (n=24) avaliou-se a frequência ventilatória (FV) para as mesmas concentrações de OEAT. Não foi observada nenhuma mortalidade nos indivíduos submetidos ao transporte. Em todos os tratamentos após o transporte ocorreu redução do oxigênio dissolvido e aumento da temperatura, amônia não ionizada e efluxo de íons  $\text{K}^+$ . A adição do OEAT reduziu pH e efluxo de íons  $\text{Na}^+$  e a utilização de 30  $\mu\text{L.L}^{-1}$  de OEAT reduziu condutividade, alcalinidade e efluxo de íons  $\text{Cl}^-$  em relação aos demais tratamentos após o transporte. O OEAT não alterou os níveis de cortisol e paraoxonase plasmáticos, entretanto a utilização de 30  $\mu\text{L.L}^{-1}$  de OEAT ocasionou a redução dos níveis plasmáticos de glicose e lactato em relação ao grupo controle após o transporte. O uso do OEAT implicou na redução da FV da tilápia do Nilo. Recomenda-se a utilização de 30  $\mu\text{L.L}^{-1}$  de OEAT como sedativo no transporte por 8 h de tilápia do Nilo, em virtude da sua influência sobre a manutenção da qualidade de água, redução da perda de íons, do estresse e da FV.

Palavras- chave: Sedação, Estresse, Cortisol, Frequência ventilatória, Íons.

*Aloysia triphylla* essential oil in the Nile tilapia transport water: ventilation rate, water quality, ion and plasma parameters.

### ABSTRACT

The use of sedatives in the transport of fish reduces the metabolic rate and stress of individuals and contribute in maintaining water quality. The study aimed to evaluate the essential oil *Aloysia triphylla* (EOAT) for sedation transport Nile tilapia. Juvenile Nile tilapia (n=180) were divided into four treatments (3 replicates each): 0 (control), 20 and 30  $\mu\text{L.L}^{-1}$  EOAT added to transport packaging (15 individuals per package) for 8 hours . We evaluated the quality of water (dissolved oxygen, temperature, conductivity, pH, alkalinity, hardness, total ammonia, non-ionized ammonia and nitrite), water ions ( $\text{Cl}^-$ ,  $\text{Na}^+$  and  $\text{K}^+$ ) and plasma parameters (cortisol, glucose , lactate and paraoxonase). In another experiment (n=24) evaluated the frequency ventilation (FV) for the same concentration of EOAT. There was no any mortality in juveniles undergoing transport. In all treatments after transport was reduced dissolved oxygen and increased temperature, non-ionized ammonia and efflux of  $\text{K}^+$  ions. The addition of EOAT reduced the pH and efflux of  $\text{Na}^+$  ions and the use of 30  $\mu\text{L.L}^{-1}$  EOAT reduced conductivity, alkalinity and efflux of  $\text{Cl}^-$  ions compared to other treatments after transport. The EOAT did not alter the plasma levels of cortisol and paraoxonase, however the use of 30  $\mu\text{L.L}^{-1}$  EOAT caused a reduction in plasma levels of glucose and lactate compared to the control group after transport. The use of EOAT involved in reducing FV of Nile tilapia. It is recommended to use 30  $\mu\text{L.L}^{-1}$  EOAT for sedation transport by 8 h of Nile tilapia, because of its influence on the maintenance of water quality, reduction of loss of ions, stress and FV.

Key words: Sedation, Stress, Cortisol, Frequency ventilation, Ions.

## INTRODUÇÃO

O transporte é uma etapa inevitável no processo produtivo de peixes (GOMES et al., 2002). Durante esta etapa, os indivíduos são afetados por uma série de agentes ou fatores estressantes, como captura, superpopulação, mudanças bruscas de temperatura, manuseio, barulho excessivo e o próprio estresse do transporte, que podem inclusive predispor os peixes a patologias pós estocagem devido à imunossupressão ou ocasionar a morte de todo o lote de peixes (WENDELAAR BONGA, 1997; OLIVEIRA et al., 2009).

Segundo Carneiro e Urbinati (2001), o transporte deve ser realizado com cuidado para que os peixes apresentem as melhores condições fisiológicas possíveis até chegarem ao seu destino. Como mecanismo de adaptação ao estresse, os peixes respondem através de uma série de mudanças nos indicadores fisiológicos, como cortisol e glicose plasmáticos, bem como perda de íons (WANDELAAR-BONGA, 1997; URBINATI et al., 2014). Neste sentido, o uso de anestésicos na água de transporte pode reduzir o estresse ou danos físicos, reduzir a atividade metabólica dos peixes (BOLASINA, 2006), bem como contribuir na manutenção da qualidade da água pela redução do consumo de oxigênio e da excreção de amônia (WURTS, 1995). A utilização de anestésicos na água influencia também a eficiência respiratória dos indivíduos, com consequente interferência nos mecanismos de suprimento de demanda energética, podendo inclusive estimular a via anaeróbica em virtude do comprometimento dos batimentos operculares (INOUE et al., 2011; URBINATI et al., 2014).

Dentre as características importantes de um bom anestésico, destacam-se disponibilidade, custo, eficácia, facilidade de manipulação e segurança para o usuário (CHO e HEATH, 2000). A necessidade de descoberta de novos anestésicos que ofereçam custos reduzidos e segurança para os peixes tem estimulado pesquisas com novos produtos (GUÉNETTE et al., 2007), como é o caso de muitos óleos essenciais derivados de plantas. A sedação é o estágio de anestesia recomendável para o transporte de peixes por longas distâncias, em virtude da redução da reação a estímulos externos, diminuição da taxa metabólica e manutenção do equilíbrio, entretanto, caso o peixe seja

fortemente sedado, eles podem perder o equilíbrio, cessar a natação e morrer por asfixia (COOKE et al., 2004; CUNHA et al., 2011).

*Aloysia triphylla* pertence à família Verbenacea e é conhecida popularmente como erva luísa (CRESTANI et al., 2012). A utilização de suas folhas é amplamente difundida em virtude de seu efeito antiespasmódico, antipirético, sedativo e calmante (CARNAT et al., 1999; SANTOS GOMES et al., 2005).

O óleo essencial de *A. triphylla* (OEAT) já demonstrou ser eficiente no transporte de jundiás (*Rhamdia quelen*) albino e cinza (PARODI et al., 2014) e pós larvas de camarão branco (*Litopenaeus vannamei*) (PARODI et al., 2012). Mas não existem estudos sobre sua eficácia no transporte de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*).

O objetivo deste trabalho foi determinar a efetividade do OEAT na água de transporte (8 h) de tilápia do Nilo, com base em dados de sobrevivência, qualidade da água, parâmetros iônicos da água ( $\text{Cl}^-$ ,  $\text{Na}^+$  e  $\text{K}^+$ ) e determinações plasmáticas (glicose, cortisol, lactato e paraoxonase), bem como seu efeito sobre a frequência ventilatória.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Óleo essencial de *Aloisya triphylla*

Folhas de *A. triphylla* (L'HER.) BRITTON foram cultivadas em Frederico Westphalen, RS, Brasil. O material testemunha encontra-se depositado no Herbário de Biologia da Universidade Federal de Santa Maria sob o número SMDB 11169.

A extração do óleo essencial foi realizada a partir das folhas frescas da planta por destilação a vapor por 2 h utilizando um aparelho do tipo Clevenger modificado. Neste método, o destilado é recolhido num tubo de vidro graduado e a fase aquosa é automaticamente reutilizada no balão de destilação (British Pharmacopoeia, 2007). As amostras de OE foram mantidas em  $-4\text{ }^{\circ}\text{C}$  em frascos de vidro âmbar até a realização da análise química por GC-MS, segundo Heldwein et al. (2012) (Tabela 1), e ensaios biológicos.

## **Animais**

Os juvenis de tilápia do Nilo, linhagem GIFT, invertidos sexualmente, peso médio de  $92,66 \pm 28,76$  g e comprimento total de  $17,33 \pm 1,66$  cm foram obtidos via Estação de Piscicultura de Bebedouro - CODEVASF, Petrolina, PE, Brasil. Os peixes foram mantidos em tanque de alvenaria e eram alimentados 2 vezes ao dia com ração comercial ( $320 \text{ g.Kg}^{-1}$  PB e 3500 kcal de energia digestível). Os parâmetros de qualidade da água durante o período de manutenção para temperatura ( $24,12 \pm 0,30$  °C), pH ( $6,22 \pm 0,07$ ), condutividade ( $0,78 \pm 0,04 \text{ mS.cm}^{-1}$ ) e oxigênio dissolvido ( $7,88 \pm 0,56 \text{ } \mu\text{L.L}^{-1}$ ) foram monitorados através de uma sonda multiparâmetros HORIBA U-50. A alimentação foi interrompida 24 h antes do início dos experimentos. O estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal da Bahia (n. 19/2014).

## **Qualidade da água e parâmetros iônicos**

Parâmetros de temperatura, pH, oxigênio dissolvido, condutividade elétrica, amônia total e não ionizada, nitrito, alcalinidade, dureza total e íons  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{Na}^+$  e  $\text{K}^+$  da água foram verificados no início e no término do transporte. O pH foi monitorado com um pHmetro (Hanna Combo – HI 98130). O oxigênio dissolvido e a temperatura foram medidos com oxímetro (Politerm - POL 60) e a condutividade elétrica a partir de um condutímetro portátil (Phtek – CD310). Os valores de nitrito, alcalinidade e dureza total foram verificados por Kit de qualidade da água (Alfakit, Florianópolis - SC). A amônia total foi medida pelo método colorimétrico e leitura em espectrofotômetro (PhotoLab® S12) e a não ionizada foi calculada de acordo com COLT (2002). Os níveis de  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  foram determinados por espectrofotometria (Espectro Blue, modelo FME), e os níveis de  $\text{Cl}^-$  por cromatografia de íons (Dionex®, ICS 1000).

## **Transporte**

O transporte iniciou-se às 8 h da manhã a partir da Estação de Piscicultura de Bebedouro (Petrolina – PB) e os exemplares de tilápia do Nilo permaneceram em

situação de transporte pelo período de 8 horas em carro fechado. Os peixes foram acondicionados em embalagens plásticas com capacidade para 30 L, fechadas com tiras elásticas, sendo 10 L de água e o restante completado com oxigênio. A densidade utilizada foi de 12 peixes/embalagem. Os peixes foram divididos em três tratamentos (3 repetições cada): controle, 20 e 30  $\mu\text{L.L}^{-1}$  de OEAT, ambos primeiramente diluídos em etanol P.A. (n=120, 12 indivíduos de cada embalagem de transporte + 12 indivíduos antes do transporte).

As concentrações foram determinadas com base em estudos prévios realizados com OEAT em pós larva de camarão branco e jundiá (PARODI et al., 2012; 2014; ZEPPENFELD et al., 2014). Além disso, um estudo piloto foi realizado e demonstrou-se que os peixes atingem apenas um estágio de sedação leve dentro do período de 8 h. Além disso, após o experimento os peixes foram acondicionados em tanques de 250 L e avaliado a mortalidade após 72 horas.

### **Análises Plasmáticas**

Ao término do transporte, amostras de sangue (1 mL) de 12 indivíduos por embalagem foram coletadas a partir de seringas heparinizadas, transferidas para micro tubos e centrifugadas a 3000 rpm por 10 min para obtenção do plasma. Outros 12 peixes foram ainda utilizados para avaliar os parâmetros plasmáticos antes do transporte. O material foi mantido sob refrigeração constante e posteriormente enviado ao Laboratório de Extensão em Análises Clínicas do Instituto de Farmácia da UFBA, onde foram determinados níveis plasmáticos de cortisol, glicose, lactato e paraoxonase.

Para determinação do cortisol plasmático foi utilizado Kit Vidas® Cortisol S, em um equipamento mini-VIDAS, em um teste automatizado para determinação quantitativa de cortisol em soro, plasma ou urina, a partir da técnica ELFA (Enzyme Linked Fluorescent Assay) adaptado de Cruz et al. (2015).

Os níveis de glicose plasmática foram determinados pelo método enzimático a partir da glicose oxidase (GOD) / glicose peroxidase (POD), método colorimétrico utilizando equipamento BT 3000 (500 testes/hora; Wiener lab®, Rosario, Argentina). Neste mesmo equipamento foi realizada análise do lactato (Lactate, Wiener lab®, Rosario, Argentina).

A paraoxonase plasmática foi avaliada através da medição de p-nitrofenol de acordo com o método descrito por Senti et al. (2003). O resultado foi obtido através da multiplicação da variação média da absorbância por um fator. Fator = volume total da reação (TRV) (mL) /  $405 \times$  valor da amostra (SV) (mL)  $\times$  espessura da cubeta (cm), em que  $405^{-1805} \text{ mL}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ . Portanto, a paraoxonase plasmática = factor  $\times$  abs / minuto.

### **Frequência Ventilatória**

A frequência ventilatória (FV) por minuto foi estimada a partir da contagem de 20 sucessivos movimentos operculares ou bucais, medindo o tempo transcorrido com cronômetro (adaptada de ALVARENGA e VOLPATO, 1995). Oito peixes que não foram submetidos ao transporte foram usados por tratamento (1 indivíduo por aquário) sob as mesmas concentrações de EOAT usadas nos tratamentos de transporte. Os tempos de avaliação da FV foram: 0; 0,5; 1; 2; 3, 4, 5, 6, 7 e 8 h. Após o experimento os peixes foram acondicionados em tanques de 250 L e avaliado a mortalidade após 72 horas.

### **Análise Estatística**

Todos os dados foram expressos como média  $\pm$  SEM e foram submetidos ao teste de Levene para verificar a homocedasticidade das variâncias. A normalidade dos dados foi avaliada pelo teste de Shapiro-Wilk. Dados exibiram variâncias homogêneas e os níveis plasmáticos de cortisol, lactato, glicose e paraoxonase, a FV, os parâmetros de qualidade da água e os níveis iônicos ( $\text{Cl}^-$ ,  $\text{Na}^+$  e  $\text{K}^+$ ) foram analisados por análise de variância (ANOVA) de uma via seguido de teste post-hoc de Tukey. Para estas análises foi utilizado o Software Statistica (versão 7.0), com nível mínimo de significância de 95% ( $P < 0,05$ ).

## **RESULTADOS**

As concentrações do OEAT não ocasionaram mortalidade, bem como qualquer outro comportamento anormal dos juvenis nos experimentos deste estudo.

## Parâmetros de qualidade de água

O oxigênio dissolvido e a temperatura não foram significativamente diferentes entre os tratamentos após o transporte, mas foram significativamente menores e maiores, respectivamente, que os valores mensurados na água antes do transporte ( $P < 0,05$ ) (Tabela 1).

**Tabela 1** - Parâmetros de qualidade de água antes e após o transporte com adição do óleo essencial de *Aloysia triphylla* para juvenis de tilápia do Nilo. Valores expressos em Média  $\pm$  SEM. Letras distintas indicam diferença significativa entre os tratamentos ( $P < 0,05$ ). Oxigênio dissolvido expresso em  $\text{mg.L}^{-1}$ , temperatura em  $^{\circ}\text{C}$ , condutividade em  $\text{mS.cm}^{-1}$ , nitrito e amônia total em  $\text{mg.L}^{-1}$  N-  $\text{NO}_2$ , amônia não ionizada em  $\mu\text{g.L}^{-1}$  de N- $\text{NH}_3$ , alcalinidade e dureza em  $\text{mg.L}^{-1}$   $\text{CaCO}_3$ .

Parâmetros	Antes do transporte	Após o transporte		
		Controle	20 $\mu\text{L.L}^{-1}$ <i>A. triphylla</i>	30 $\mu\text{L.L}^{-1}$ <i>A. triphylla</i>
Oxigênio Dissolvido	6,83 $\pm$ 0,09 <sup>a</sup>	3,63 $\pm$ 0,17 <sup>b</sup>	3,70 $\pm$ 0,11 <sup>b</sup>	3,33 $\pm$ 0,28 <sup>b</sup>
Temperatura	25,9 $\pm$ 0,06 <sup>b</sup>	30,3 $\pm$ 0,17 <sup>a</sup>	30,0 $\pm$ 0,03 <sup>a</sup>	30,6 $\pm$ 0,13 <sup>a</sup>
Condutividade	7,4 $\pm$ 0,10 <sup>c</sup>	45,5 $\pm$ 0,69 <sup>a</sup>	42,9 $\pm$ 0,81 <sup>a</sup>	31,3 $\pm$ 1,59 <sup>b</sup>
pH	6,57 $\pm$ 0,08 <sup>a</sup>	6,08 $\pm$ 0,20 <sup>a</sup>	5,70 $\pm$ 0,04 <sup>b</sup>	5,86 $\pm$ 0,02 <sup>b</sup>
Alcalinidade	36,67 $\pm$ 3,33 <sup>b</sup>	86,67 $\pm$ 6,67 <sup>a</sup>	76,33 $\pm$ 3,33 <sup>a</sup>	53,33 $\pm$ 3,33 <sup>b</sup>
Dureza	40,00 $\pm$ 0,00 <sup>a</sup>	40,00 $\pm$ 0,00 <sup>a</sup>	40,00 $\pm$ 0,00 <sup>a</sup>	40,00 $\pm$ 0,00 <sup>a</sup>
Amônia Total	0,04 $\pm$ 0,01 <sup>c</sup>	0,91 $\pm$ 0,09 <sup>b</sup>	1,45 $\pm$ 0,08 <sup>a</sup>	1,06 $\pm$ 0,16 <sup>ab</sup>
Amônia não ionizada	0,09 $\pm$ 0,01 <sup>b</sup>	0,89 $\pm$ 0,07 <sup>a</sup>	0,58 $\pm$ 0,05 <sup>a</sup>	0,64 $\pm$ 0,06 <sup>a</sup>
Nitrito	0,015 $\pm$ 0,00 <sup>a</sup>	0,025 $\pm$ 0,00 <sup>a</sup>	0,025 $\pm$ 0,00 <sup>a</sup>	0,025 $\pm$ 0,00 <sup>a</sup>

A condutividade foi significativamente inferior no tratamento antes do transporte em relação aos tratamentos após o transporte. Além disso, o uso de 30  $\mu\text{L.L}^{-1}$  de OEAT reduziu significativamente a condutividade em relação ao controle e a 20  $\mu\text{L.L}^{-1}$  de OEAT ( $P < 0,05$ ) (Tabela 1).

O pH demonstrou que todas as águas foram ácidas, entretanto, os tratamentos 20 e 30  $\mu\text{L.L}^{-1}$  de OEAT apresentaram valores significativamente inferiores aos demais ( $P < 0,05$ ). Para alcalinidade, os tratamentos controle e 20  $\mu\text{L.L}^{-1}$  de OEAT apresentaram valores estatisticamente maiores que os tratamentos antes do transporte e 30  $\mu\text{L.L}^{-1}$  de OEAT ( $P < 0,05$ ) (Tabela 1).

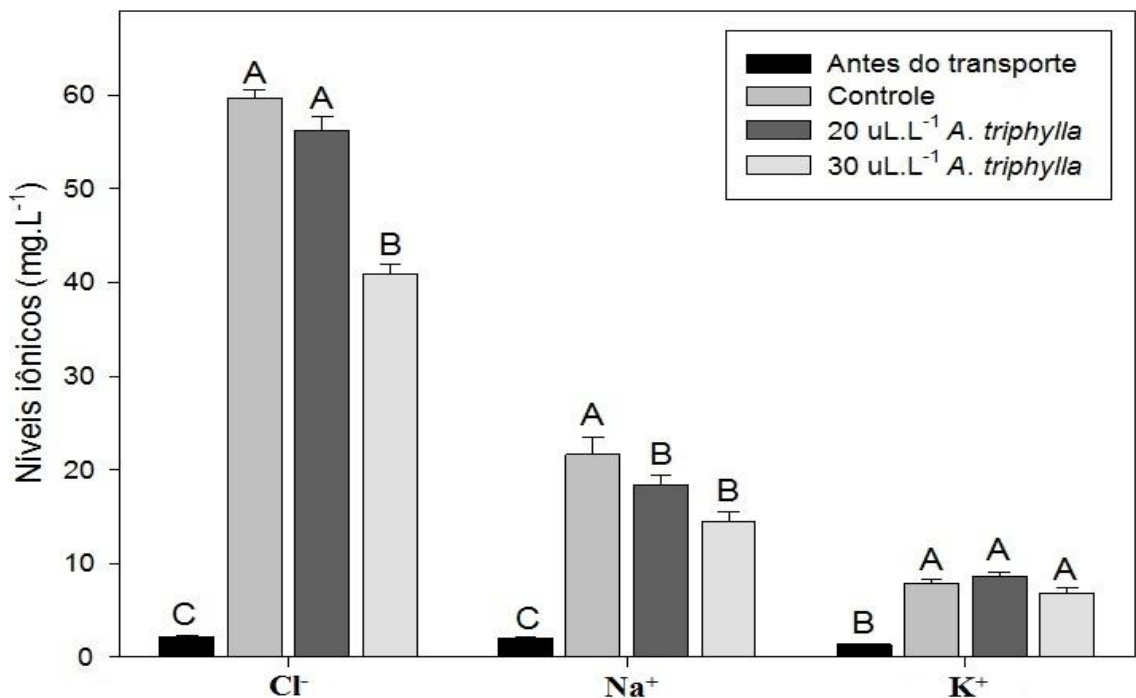


A amônia total foi significativamente menor antes do transporte em relação aos tratamentos após o transporte. O uso de 20  $\mu\text{L.L}^{-1}$  OEAT elevou os níveis de amônia total em relação ao tratamento controle. Os níveis de amônia não ionizada foram menores no tratamento antes do transporte em relação aos tratamentos após o transporte ( $P < 0,05$ ) (Tabela 1).

### Parâmetros iônicos

Antes do transporte, verificaram-se valores significativamente menores dos íons  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{Na}^+$  e  $\text{K}^+$  em relação aos tratamentos após o transporte ( $P < 0,05$ ). Após o transporte, para o íon  $\text{Cl}^-$  a concentração de 30  $\mu\text{L.L}^{-1}$  de OEAT foi estatisticamente inferior a 0 e 20  $\mu\text{L.L}^{-1}$  de OEAT e para o íon  $\text{Na}^+$  as concentrações de 20 e 30  $\mu\text{L.L}^{-1}$  de OEAT foram estatisticamente inferiores a o tratamento controle ( $P < 0,05$ ) (Figura 1).

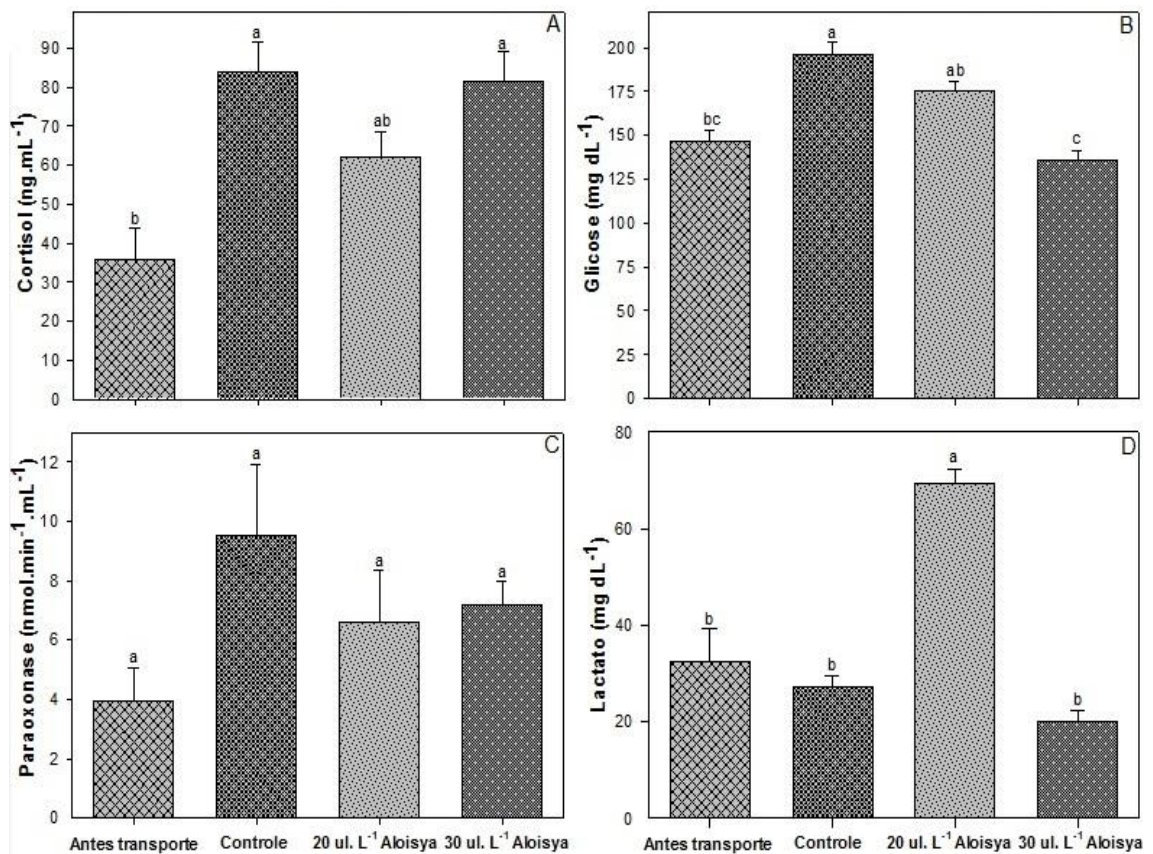
**Figura 1** – Efeito do óleo essencial de *Aloysia triphylla* sobre os parâmetros iônicos ( $\text{Cl}^-$ ,  $\text{Na}^+$  e  $\text{K}^+$ ) da água antes e após o transporte (8 h) de juvenis de tilápia do Nilo. Os dados são expressos em média  $\pm$  SEM. Letras distintas indicam diferença significativa entre os tratamentos ( $P < 0,05$ ).



## Parâmetros plasmáticos

Os níveis de cortisol plasmático de juvenis de tilápia do Nilo antes do transporte foram menores do que os tratamentos controle e 30  $\mu\text{L.L}^{-1}$  de OEAT ( $P < 0,05$ ) (Figura 2A).

**Figura 2** – Efeito de diferentes concentrações de óleo essencial de *Aloysia triphylla* sobre os níveis plasmáticos de cortisol (A), glicose (B), paraoxonase (C) e lactato (D) em juvenis de tilápia do Nilo submetidos ao transporte (8 h). Os dados são expressos em média  $\pm$  SEM. Letras distintas indicam diferença significativa entre os tratamentos ( $P < 0,05$ ).



Os níveis de glicose plasmática do tratamento controle foram estatisticamente maiores do que os peixes não transportados e os transportados com 30  $\mu\text{L.L}^{-1}$  de OEAT. Além disso, os níveis de glicose plasmática dos peixes transportados com 20  $\mu\text{L.L}^{-1}$  também foram significativamente superiores do que o tratamento 30  $\mu\text{L.L}^{-1}$  de OEAT (Figura 2B).

Não foi observada nenhuma diferença significativa entre os tratamentos quanto aos níveis plasmáticos de paraoxonase de tilápia do Nilo (Figura 2 C). Os níveis de lactato do plasma foram estatisticamente maiores nos peixes transportados com 20  $\mu\text{L.L}^{-1}$  de OEAT em relação aos demais tratamentos ( $P < 0,05$ ) (Figura 2 D).

### Frequência ventilatória

De maneira geral, a exposição dos exemplares a 20 e 30  $\mu\text{L.L}^{-1}$  de OEAT reduziu a FV em relação ao controle. Para os tratamentos com OEAT (20 ou 30  $\mu\text{L.L}^{-1}$ ) observou-se que o efeito sedativo do OEAT sobre a redução da FV pode perdurar por até 8 h. Com o uso de 20  $\mu\text{L.L}^{-1}$  de OEAT foi observado aumento da FV após 8 h de exposição ao OEAT em relação aos tempos de 2 a 4 h. Já com o uso de 30  $\mu\text{L.L}^{-1}$  foi observado uma maior FV entre 6 a 8 h após exposição ao OEAT em relação ao tempo de 1 a 3 h ( $P < 0,05$ ). (Tabela 2). E no tratamento controle observou-se uma maior FV entre 7 e 8 h em relação a 1 h após exposição ao OEAT ( $P < 0,05$ ) (Tabela 2).

**Tabela 2** - Frequência Ventilatória de juvenis de tilápia do Nilo expostos a diferentes concentrações de óleo essencial de *Aloysia triphylla* (8 h). Valores expressos em Média  $\pm$  SEM. Letras maiúsculas distintas nas linhas indicam diferença significativa entre os tratamentos no mesmo tempo ( $P < 0,05$ ). Letras minúsculas distintas nas colunas indicam diferença significativa entre os tempos no mesmo tratamento ( $P < 0,05$ ).

Tempo de exposição (h)	Tratamentos		
	Controle	20 $\mu\text{L.L}^{-1}$ <i>A. triphylla</i>	30 $\mu\text{L.L}^{-1}$ <i>A. triphylla</i>
0	68,89 $\pm$ 2,90 <sup>Ac</sup>	67,42 $\pm$ 2,67 <sup>Aa</sup>	76,52 $\pm$ 3,18 <sup>Aa</sup>
0,5	87,64 $\pm$ 4,85 <sup>Aab</sup>	48,27 $\pm$ 3,11 <sup>Bbc</sup>	48,28 $\pm$ 1,37 <sup>Bbc</sup>
1	77,92 $\pm$ 3,57 <sup>Abc</sup>	40,71 $\pm$ 3,15 <sup>Bbc</sup>	40,08 $\pm$ 2,24 <sup>Bc</sup>
2	88,86 $\pm$ 3,33 <sup>Aab</sup>	33,33 $\pm$ 2,15 <sup>Bc</sup>	36,65 $\pm$ 2,47 <sup>Bc</sup>
3	84,85 $\pm$ 4,04 <sup>Aabc</sup>	34,93 $\pm$ 1,92 <sup>Bc</sup>	39,24 $\pm$ 2,03 <sup>Bc</sup>
4	82,78 $\pm$ 2,42 <sup>Aabc</sup>	35,98 $\pm$ 1,25 <sup>Bc</sup>	48,06 $\pm$ 2,59 <sup>Bbc</sup>
5	91,83 $\pm$ 3,86 <sup>Aab</sup>	36,84 $\pm$ 1,35 <sup>Bbc</sup>	49,66 $\pm$ 1,75 <sup>Bbc</sup>
6	90,94 $\pm$ 5,32 <sup>Aab</sup>	40,78 $\pm$ 1,83 <sup>Bbc</sup>	57,57 $\pm$ 2,08 <sup>Bb</sup>
7	95,91 $\pm$ 3,69 <sup>Aa</sup>	47,85 $\pm$ 2,30 <sup>Bbc</sup>	57,75 $\pm$ 2,39 <sup>Bb</sup>
8	98,08 $\pm$ 3,98 <sup>Aa</sup>	52,76 $\pm$ 2,07 <sup>Bab</sup>	60,79 $\pm$ 6,58 <sup>Bab</sup>

## DISCUSSÃO

### Qualidade de água

O consumo do oxigênio dissolvido pelos peixes para respiração é uma das principais causas da redução do nível de oxigênio da água após o transporte, o que está diretamente relacionado ao metabolismo destes animais (URBINATI et al., 2014). Em consonância ao presente estudo, Parodi et al. (2014), avaliando o uso do OEAT no transporte (5 h) de jundiás cinza e albino, também observaram redução dos níveis de oxigênio dissolvido após o transporte. Entretanto, os níveis de oxigênio encontrados no presente trabalho após o transporte (3,33 a 3,70 mg.L<sup>-1</sup>) mantiveram-se acima dos níveis letal (1 mg. L<sup>-1</sup>) e de hipóxia (2 mg. L<sup>-1</sup>), característico para a maioria das espécies de peixes (BALDISEROTTO et al., 2014).

A temperatura da água antes do transporte foi menor em virtude das condições ambientais da realização do experimento, com temperatura ambiente mais amena típica das primeiras horas da manhã. Adicionalmente, as temperaturas da água antes e após o transporte (25,9 a 30,6° C) mantiveram-se dentro da faixa de conforto térmico para a tilápia do Nilo (entre 24 e 33 ° C) (BARAS et al., 2000).

A condutividade da água tem estreita relação com os íons orgânicos dissolvidos nela e apresentou-se dentro dos padrões recomendados para a aquicultura (inferior a 100 mS.cm<sup>-1</sup>) (SÁ, 2012). O incremento da condutividade após o transporte foi ocasionado pela liberação de íons (Na<sup>+</sup>, Cl<sup>-</sup> e K<sup>+</sup>). E a redução da condutividade na concentração de 30 µL.L<sup>-1</sup> de OEAT está diretamente relacionado com a menor liberação de íon Cl<sup>-</sup> pra esta concentração. Similar a este estudo, o aumento da condutividade da água também foi relacionado ao aumento da excreção de íons mediante situação de estresse de transporte em dourado (*Salminus brasiliensis*) (ADAMANTE et al., 2008).

Os valores do pH da água mantiveram-se dentro ou próximos aos valores de conforto para a espécie (6 a 8,5) (TENÓRIO et al., 2012). A utilização de 18 mg.L<sup>-1</sup> de óleo de cravo como sedativo na água de transporte (24 h) de tilápia do Nilo também ocasionou uma redução do pH em relação ao controle (SIMÕES et al., 2011), corroborando com o presente estudo.

Assim como nesse estudo, o aumento dos níveis de alcalinidade após o transporte também foram relatados por Parodi et al. (2014), utilizando 30 e 40 µL.L<sup>-1</sup> de

OEAT no transporte (5 h) de jundiás albino e cinza, e segundo estes autores, tal aumento pode estar relacionado com a regurgitação do alimento pelos peixes, e consequente incremento de cálcio calcítico (presente na composição da ração) à água de transporte. Em estudos com óleo essencial de *Lippia alba* (10 e 20  $\mu\text{L.L}^{-1}$ ), eugenol (1,5 e 3,0  $\mu\text{L.L}^{-1}$ ) (BECKER et al., 2012) e extrato metanólico de *Condalia buxifolia* (5 e 10  $\mu\text{L.L}^{-1}$ ) (SALBEGO et al., 2015) no transporte de jundiás por 4 e 6 h, respectivamente, também foram observados incrementos dos níveis de alcalinidade relacionados à regurgitação de alimento. Estes trabalhos ainda relacionaram a regurgitação à elevação da dureza da água após o transporte. No presente estudo, contudo, não foram observados restos de alimentos nas embalagens de transporte em virtude do período de 24 h de jejum antes do transporte recomendado para a tilápia do Nilo (OLIVEIRA et al., 2009; MELLO et al., 2012) e, provavelmente, o aumento da alcalinidade tenha ocorrido pela excreção de íons vias brânquias ou fezes. Além disso, a ausência de regurgitação verificada no presente estudo pode explicar a manutenção dos níveis de dureza da água após 8 h de transporte.

De maneira geral, a utilização de OEAT (30 e 40  $\mu\text{L.L}^{-1}$ ) (PARODI et al., 2014; DANIEL et al., 2014; ZEPPEFELD et al., 2014), extrato metanólico de *C. buxifolia* (5 e 10  $\mu\text{L.L}^{-1}$ ) (SALBEGO et al., 2015), óleo essencial de *L. alba* (10 e 20  $\mu\text{L.L}^{-1}$ ) e eugenol (1,5 e 3,0  $\mu\text{L.L}^{-1}$ ) (BECKER et al., 2012) no transporte de jundiás implicaram na elevação dos níveis de amônia não ionizada do tratamento antes do transporte em relação a depois do transporte, corroborando com o presente estudo, além de não ser observada ainda diferença significativa entre os tratamentos após o transporte. Nestes trabalhos foi ainda observada redução da amônia total em virtude da utilização dos anestésicos, diferentemente do presente estudo, em que o uso de 20  $\mu\text{L.L}^{-1}$  de OEAT elevou a amônia total em comparação ao tratamento controle.

A amônia não ionizada é a forma tóxica para os peixes, e a sua concentração na água está relacionada principalmente ao pH e a temperatura e, em ambos os casos o aumento de um dos parâmetros implica no aumento da proporção de amônia não ionizada (SÁ et al., 2012). No presente estudo, os menores valores de pH nos tratamentos 20 e 30  $\mu\text{L.L}^{-1}$  de OEAT contribuem para redução da proporção da forma tóxica da amônia, entretanto o aumento da temperatura após o transporte resultou em maiores níveis de amônia não ionizada em todos os tratamentos após o transporte.

Ainda assim, os níveis de amônia não ionizada (0,58 a 0,89  $\mu\text{L.L}^{-1}$ ) estão seguramente abaixo dos níveis letais para peixes (acima de 500  $\mu\text{L.L}^{-1}$ ) (SÁ et al., 2012).

Para os níveis de nitrito na água de transporte de jundiá albino e cinza, Parodi et al. (2014) também não encontraram diferença significativa entre os tratamentos influenciado pela utilização do OEAT (30 a 50  $\mu\text{L.L}^{-1}$ ), corroborando com o presente estudo. Por outro lado, embora a utilização de óleo essencial de *L. alba* (10 e 20  $\mu\text{L.L}^{-1}$ ) no transporte por 8 h de tilápia do Nilo não influenciou os níveis de nitrito entre os tratamentos após o transporte, tais níveis antes do transporte foram estatisticamente menores (HOHLENWERGER, 2015).

### **Parâmetros iônicos**

Frente a uma situação de estresse, como no transporte em peixes, ocorre um aumento da liberação de catecolaminas e conseqüentemente há um aumento no fluxo sanguíneo e permeabilidade branquial, o que, nos peixes de água doce implica em perdas de íons sanguíneos para o meio, especialmente  $\text{Cl}^-$  e  $\text{Na}^+$  (URBINATI et al., 2014). Tal efluxo de íons do sangue para a água ocorreu no presente estudo para os íons  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{Na}^+$  e  $\text{K}^+$  em todos os tratamentos após o transporte, mas foi menor nos tratamentos com 20 ( $\text{Na}^+$ ) e 30  $\mu\text{L.L}^{-1}$  de OEAT ( $\text{Cl}^-$  e  $\text{Na}^+$ ), o que demonstra o potencial do OEAT na redução de perda de íons decorrente do estresse. Similarmente, o OEAT (30 e 40  $\mu\text{L.L}^{-1}$ ) já foi relacionado à redução da perda de íons ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$  e  $\text{K}^+$ ) e conseqüente diminuição do estresse no transporte de jundiás (5 a 6 h) (PARODI et al., 2014; ZEPPENFELD et al., 2014).

A menor perda de íons  $\text{Cl}^-$  e  $\text{Na}^+$  também foi reportada mediante a utilização de eugenol (1,0 e 2,5  $\mu\text{L.L}^{-1}$ ) e extrato metanólico de *C. buxifolia* (5, 10, 25 e 50  $\mu\text{L.L}^{-1}$ ) no transporte de jundiás por 6 e 12 h (BECKER et al., 2014; SALBEGO et al., 2015). Entretanto, para o transporte (6 a 24 h) de tilápia do Nilo, o eugenol (9 e 18  $\text{mg.L}^{-1}$ ) não é recomendado, em virtude de induzir um maior distúrbio ionorregulatório e mortalidade (SIMÕES et al., 2011).

## Parâmetros plasmáticos

O uso do OEAT (30 e 40  $\mu\text{L.L}^{-1}$ ) demonstrou-se efetivo na redução do cortisol plasmático após o transporte (6 h) em jundiás (ZEPPENFELD et al., 2014). Entretanto, este efeito não foi verificado no presente estudo, assim como descrito por Hohlenwerger (2015) com o uso do óleo essencial de *L. alba* (10 e 20  $\mu\text{L.L}^{-1}$ ) no transporte (8 h) de tilápia do Nilo e por Salbego et al. (2015) ao avaliar o extrato metanólico de *C. buxifolia* como sedativo no transporte de jundiás, o que reforça a idéia de que as respostas fisiológicas relacionadas ao estresse podem variar de acordo com a espécie (BARTON, 2002).

Além do cortisol, outros parâmetros plasmáticos, como glicose e lactato também fornecem uma boa resposta da condição fisiológica destes animais frente ao estresse (MARTÍNEZ-PORCHAS, 2009). Os menores níveis plasmáticos de glicose e lactato encontrados neste estudo para 30  $\mu\text{L.L}^{-1}$  de OEAT em relação ao grupo controle e 20  $\mu\text{L.L}^{-1}$  de OEAT, respectivamente, caracterizam, portanto, um menor estresse nos juvenis deste tratamento.

Similarmente, a redução da hiperglicemia já foi reportada em estudos prévios com transporte, como descrito para o óleo essencial de *Hesperozygis ringens* (30  $\mu\text{L.L}^{-1}$ ) em jundiás (6 h) (TONI et al., 2015) e óleo essencial de *L. alba* (10 e 20  $\mu\text{L.L}^{-1}$ ) (8 h) em tilápia do Nilo (HOHLENWERGER, 2015), o que pode contribuir em reduzir a mobilidade dos indivíduos durante o transporte (HOHLENWERGER, 2015).

Elevação da glicose plasmática relacionada ao estresse após o transporte já foi reportada em várias espécies, como matrinxã (*Brycon cephalus*) (URBINATI et al., 2004), pirarucu (*Arapaima gigas*) (GOMES et al., 2003 a) e tambaqui (GOMES et al., 2003 b) (por 4, 6 e 10 de transporte, respectivamente). A glicose plasmática é um importante parâmetro de avaliação de estresse em peixes e pode, inclusive, ser mais evidente do que o cortisol na avaliação da condição fisiológica destes animais frente ao estresse ocasionado pelo transporte (TAKAHASHI et al., 2006). O uso de 30  $\mu\text{L.L}^{-1}$  de OEAT contribui, portanto, na redução dos níveis plasmáticos de glicose e evidenciam um menor requerimento energético nos animais submetidos ao anestésico em virtude da sedação alcançada com esta concentração. Por outro lado, o uso do eugenol (2 e 3 mg.

L<sup>-1</sup>) no transporte (72 h) de tilápia azul (*Oreochromis Aureus*) resultou em maiores níveis de glicose plasmática após o transporte (AKAR, 2011).

Os níveis plasmáticos de lactato também fornecem uma idéia da demanda energética dos peixes em situação de estresse (URBINATI et al., 2014). Elevação dos níveis plasmáticos de lactato também já foi relacionada ao estresse pós transporte (12 h) em carpas (DOBŠÍKOVÁ et al., 2009). O uso do eugenol (5 mg. L<sup>-1</sup>) reduz os níveis plasmáticos de lactato em matrinxã após o transporte (4 h) e está relacionado à diminuição do fornecimento de oxigênio para as células em virtude da ação do anestésico sobre a respiração e atividade muscular dos indivíduos (INOUE et al., 2005). Neste sentido, os menores níveis plasmáticos de lactato na concentração de 30 µL.L<sup>-1</sup> em relação a 20 µL.L<sup>-1</sup> de OEAT demonstram a eficácia deste anestésico na mitigação dos efeitos adversos observados em situação de estresse na maior concentração avaliada no presente estudo.

A paraoxonase está relacionada à proteção ao estresse oxidativo e consequente danos aos tecidos e células dos indivíduos (CORREIA e PERRY, 2010; KARATAS e KOCAMAN, 2014). Isto indica que neste estudo a exposição ao OEAT não alterou o mecanismo de proteção de estresse oxidativo em exemplares de tilápia do Nilo, o que também foi observado por Hohlenwerger (2015) avaliando o óleo essencial de *L. alba* (10 e 20 µL.L<sup>-1</sup>) em tilápia do Nilo durante o transporte (8h).

### **Frequência Ventilatória**

A FV é uma importante ferramenta na avaliação do estresse de tilápia do Nilo. Em situação de ausência de estresse os batimentos operculares variaram entre 96 e 109 batimentos.min<sup>-1</sup> e valores acima desta faixa indicam estresse (BARRETO e VOLPATO, 2004). Neste estudo, a utilização de 20 e 30 µL.L<sup>-1</sup> de OEAT por 8 h mantiveram os batimentos operculares da tilápia do Nilo abaixo de 61 batimentos.min<sup>-1</sup>, evidenciando o estado de sedação dos animais.

A relação entre utilização de anestésicos e redução da FV já foi reportada em tilápia do Nilo após anestesia com eugenol (60 a 300 mg.L<sup>-1</sup>) (MOREIRA et al., 2010) e óleo essencial de *L. alba* (10 e 20 µL.L<sup>-1</sup>) (HOHLENWERGER, 2015). Similarmente, o uso de anestésicos como o óleo essencial de *L. alba* (10 e 20 µL.L<sup>-1</sup>) e eugenol (1,5 e 3



$\mu\text{L.L}^{-1}$ ) no transporte de jundiá (4 h) (BECKER et al., 2012) e o cloridrato de lidocaína (5 a 20 ppm) no transporte de linguado (*Pleuronectes americanus*) (5 h) (PARK et al., 2009) reduziram os batimentos operculares e, conseqüentemente, a atividade metabólica dos indivíduos. Park et al. (2009) ainda relacionaram a redução dos batimentos operculares com a diminuição do consumo de oxigênio durante o transporte, o que também foi verificado no presente estudo. Em contrapartida, o uso do óleo essencial de *H. ringens* (30 e 50  $\mu\text{L.L}^{-1}$ ) não reduziu a FV em jundiás quando comparados ao grupo controle (TONI et al., 2015).

Adicionalmente, Becker et al. (2012) relacionou a menor perda de íons ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$  e  $\text{K}^+$ ) no uso de óleo essencial de *L. alba* no transporte de jundiás por 4 h com a redução da FV e conseqüente diminuição dos batimentos operculares, o que resultou em menor fluxo de água através das brânquias. Isto está de acordo com o verificado no presente estudo, onde 30  $\mu\text{L.L}^{-1}$  de OEAT no transporte de tilápia do Nilo foi eficaz em reduzir a perda de íons e a FV.

## CONCLUSÕES

O OEAT é eficaz como sedativo no transporte de tilápia do Nilo. A dosagem de 30  $\mu\text{L.L}^{-1}$  é recomendada em virtude de contribuir na manutenção da qualidade da água de transporte, reduzir as perdas iônicas de  $\text{Cl}^-$  e  $\text{Na}^+$ , inibir a elevação de níveis plasmáticos de glicose e lactato e reduzir a FV dos indivíduos.

## REFERÊNCIAS

- ADAMANTE, W. B.; BARCELLOS, L. J. G.; FINCO, J. A.; SOSO, A. B.; NUÑER, A. P. O. 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.
- AKAR, A. M. A. Effects of Clove Oil on the Response of Blue Tilapia (*Oreochromis Aureus*) by Transportation Stress. **Journal of the Arabian Aquaculture Society**, v. 6, p. 77 - 86, 2011.

- ALVARENGA, C. M. D.; VOLPATO, G. L. Agonistic profile and metabolism in alevins of the Nile tilapia. **Physiology & Behavior**, v. 57, p. 75 - 80, 1995.
- BARAS, E.; PRIGNON, C.; GOHOUNGO, G.; MEALARD, C. Phenotypic sex differentiation of blue tilapia under constant and fluctuating thermal regimes and its adaptive and evolutionary implications. **Journal of Fish Biology**, v. 57, p. 210 - 223, 2000.
- BARTON, B. A. Stress in fishes: a diversity of responses with particular reference to changes in circulating corticosteroids. **Integrative and Comparative Biology**, v. 42, p. 517 - 525, 2002.
- BARRETO, R. E.; VOLPATO, G. L. Caution for using ventilatory frequency as an indicator of stress in fish. **Behavioural Processes**, v. 66, p. 43 - 51, 2004.
- BECKER, A. G.; PARODI, T. V.; HELDWEIN, C. G.; ZEPPEFELD, C. 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.
- BECKER, A. G.; CUNHA, M. A.; GARCIA, L. O.; ZEPPEFELD, C. C.; PARODI, T. V.; MALDANER, G.; MOREL, A. F.; BALDISSEROTTO, B. Efficacy of eugenol and the methanolic extract of *Condalia buxifolia* during the transport of the silver catfish *Rhamdia quelen*. **Neotropical Ichthyology**, v. 11, p. 675 - 681, 2013.
- BOLASINA, S. N. Cortisol and hematological response in Brazilian codling, *Urophycis brasiliensis* (Pisces, Phycidae) subjected to anesthetic treatment. **Aquaculture International**, v. 14, p. 569 - 575, 2006.
- BRITISH PHARMACOPOEIA COMMISSION. **British Pharmacopoeia**. 5. ed. London: The Stationery Office, 2007.
- CARNAT, V.; CARNAT, A. P.; FRAISSE, D.; LAMAISON, J.L. The aromatic and polyphenolic composition of lemon verbena tea. **Fitoterapia**, v. 70, p. 44 - 49, 1999.

- CARNEIRO, P. C. F.; URBINATI, E. C. Salt as a stress response mitigator of matrinxã, *Brycon cephalus* (Günther), during transport. **Aquaculture Research**, v. 32, p. 298 - 307, 2001.
- CHO, G. K.; HEATH, D. D. Comparison of tricaine methanesulphonate (MS222) and clove oil anaesthesia effects on the physiology of juvenile Chinook salmon *Oncorhynchus tshawytscha* (Walbaum). **Aquaculture Research**, v. 31, p. 537 - 546, 2000.
- COLT, J. List of spreadsheets prepared as a complement (Available in [www.fisheries.org/hatchery](http://www.fisheries.org/hatchery)). In: Wedemeyer GA (ed) Fish hatchery management, 2nd edn. **Amer Fish Soc Pub**, 2002
- COOKE, S. J.; SUSKI, C. D.; OSTRAND, K. G.; TUFTS, B. L.; WAHL, D. H. Behavioral and physiological assessment of low concentration of clove oil anaesthetic for handling and transporting largemouth bass (*Micropterus salmoides*). **Aquaculture**, v. 239, p. 509 - 529, 2004.
- CORREIA, J. D.; PERRY, I. D. S. Modulação dietética da atividade da paraoxonase: revisão de estudos em humanos. **Revista Hospital das Clínicas de Porto Alegre**, v. 30, p. 271 - 278, 2010.
- CRESTANI, L.; MANICA, V.; CHIARADIA, V.; PUTON, B. M. S.; PAROUL, N.; CANSIAN, R. L. Caracterização química e atividade antibacteriana do óleo essencial de erva-lúisa (*Aloysia Triphylla* (L'HÉR.) BRITTON). **Perspectiva**, v. 36, p. 53 - 63, 2012.
- CRUZ, A. L.; PRADO, T. M.; MACIEL, L. A. S.; COUTO, R. D. Environmental effects on the gills and blood of *Oreochromis niloticus* exposed to rivers of Bahia, Brazil. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 111, p. 23 - 31, 2015.
- CUNHA, M. A.; DA 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.
- DANIEL, A. P.; VEECK, A. P. L.; KLEIN, B.; FERREIRA, L. F.; CUNHA, M. A.; PARODI, T. V.; ZEPPENFELD, C. C.; SCHMIDT, D.; CARON, B. O.;

- HEINZMANN, B. M.; BALDISSEROTTO, B.; EMANUELLI, T. Using the Essential Oil of *Aloysia triphylla* (L'Her.) Britton to Sedate Silver Catfish (*Rhamdia quelen*) during Transport Improved the Chemical and Sensory Qualities of the Fish during Storage in Ice. **Journal of Food Science**, v. 79, p. 1205 - 1211, 2014.
- DOBŠÍKOVÁ, R.; SVOBODOVÁ, Z.; BLÁHOVÁ, J.; MODRÁ, H.; VELÍŠEK, J. The effect of transport on biochemical and haematological indices of common carp (*Cyprinus carpio* L.). **Journal of Animal Science**, v. 54, p. 510 - 518, 2009.
- GOMES, L. C.; ROUBACH, R.; ARAÚJO-LIMA, C. A. R. M. Transportation of tambaqui juveniles (*Colossoma macropomum*) in Amazon: main problems. **World Aquaculture Society**, v. 33, p. 51 - 54, 2002.
- GOMES, L.C.; ROUBACH, R.; CAVERO, B. A. S.; PEREIRA-FILHO, M.; URBINATI, E. C. Transport of pirarucu *Arapaima gigas* juveniles in plastic bag. **Acta Amazônica**, v. 33, p. 637 - 642, 2003 a.
- GOMES, L.C.; ROUBACH, R.; ARAUJO –LIMA, C. A. R. M.; GOMES, A. R. C.; LOPES, N. P.; URBINATI, E. C. Effect of fish density on the stress physiological responses and mortality of juvenile tambaqui *Colossoma macropomum* during transportation . **Journal of World Aquaculture Society**, v. 34, p. 76 - 84, 2003 b.
- GUÉNETTE, S. A.; UHLAND, F. C.; HÉLIE, P.; BEAUDRY, F.; VACHON, P. Pharmacokinetics of eugenol in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, v. 266, p. 262 - 265, 2007.
- HELDWEIN, C. G.; SILVA, L. L.; RECKZIEGEL, P.; BARROS, F. M. C.; BÜRGER M. E.; BALDISSEROTTO, B.; MALMANN, C. A.; SCHMIDT, D.; CARON, B. O.; HEINZMANN, B. M. Participation of GABAergic system in the anesthetic effect of the essential oil of *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 45, p. 436 - 443, 2012.
- HOHLENWERGER, J. C. **Óleo essencial de *Lippia alba* no manejo e transporte de tilápia do nilo**. Janeiro de 2015. 60 f. Dissertação apresentada ao Programa de

Pós graduação em Zootecnia, como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em Zootecnia, Salvador. Bahia. Brasil. 2015.

- INOUE, L. A. K. A.; AFONSO, L. O. B.; IWANA, G. K.; MORAES, G. Effects of clove oil on the stress response of matrinxã (*Brycon cephalus*) subjected to transport. **Acta amazônica**, v. 35, p. 289 - 295, 2005.
- INOUE, L. A. K. A.; BOIJINK, C. L.; RIBEIRO, P. T.; SILVA, A. M. D.; AFFONSO, E. G. Avaliação de respostas metabólicas do tambaqui exposto ao eugenol em banhos anestésicos. **Acta Amazonica**, v. 41, p. 327 - 332, 2011.
- KARATAS, T.; KOCAMAN, E. M. Susceptibility to oxidative damage in wild and cultured Brook Trouts (*Salvelinus Fontinalis* Mitchell, 1815). **International Journal of Fisheries and Aquatic Studies**, v. 2, p. 180 - 183, 2014.
- MARTÍNEZ-PORCHAS, M.; MARTÍNEZ-CÓRDOVA, L. R.; RAMOS-ENRIQUEZ, R. Cortisol and Glucose: Reliable indicators of fish stress? **Pan-American Journal of Aquatic Sciences**, v. 4, p. 158 - 178, 2009.
- MELLO, R.A.; COSTA, L. S.; OKAMURA, D.; ARAUJO, F. G.; RIBEIRO, P. A. P.; CORREA, F. M.; ROSA, P. V. E. Avaliação de 2-fenoxietanol e mentol como agentes anestésicos em tilápias. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 38, p. 53 - 59, 2012.
- MOREIRA, A. G. L.; TEIXEIRA, E. G.; CARREIRO, C. R. P.; MOREIRA, R. L. Eficácia do eugenol extraído da planta *Eugenia aromatica* como anestésico para realização de biometrias em adultos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Acta Scientiarum Animal Sciences**, v. 32, p. 419 - 423, 2010.
- OLIVEIRA, J. R.; CARMO, J. L.; OLIVEIRA, K. K. C.; SOARES, M. C. F. Cloreto de sódio, benzocaína e óleo de cravo-da-índia na água de transporte de tilápia-do-nilo. **Brazilian Journal of Animal Science**, v. 38, p. 1163 - 1169, 2009.
- PARK, I. S.; PARK, M. O.; HUR, J. W.; KIM, D. S.; CHANG, Y. J.; KIM, Y. J.; PARK, J. Y.; JOHNSON, S. C. Anesthetic effects of lidocaine-hydrochloride on water parameters in simulated transport experiment of juvenile winter flounder, *Pleuronectes americanus*. **Aquaculture**, v. 294, p. 76 - 79, 2009.

- PARODI, T. V.; CUNHA, M. A.; HELDWEIN, C. G.; SOUZA, D. M.; MARTINS, A. C.; GARCIA, L. O.; WASIELESKY JUNIOR, W.; MONSSERAT, J. M.; SCHIMIDT, D.; CARON, B.; HEINZMANN, B.; BALDISSEROTTO, B. The anesthetic efficacy of eugenol and the essential oils of *Lippia alba* and *Aloysia triphylla* in post-larvae and sub-adults of *Litopenaeus vannamei* (Crustacea, Penaeidae). **Comparative Biochemistry and Physiology Part C**, v. 155, p. 462 - 468, 2012.
- PARODI, T. V.; CUNHA, M. A.; BECKER, A. G.; ZEPPENFELD, C. C.; MARTINS, D. I.; KOAKOSKI, G.; BARCELLOS, L. G.; HEINZMANN, B. M.; BALDISSEROTTO, B. 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.
- RIGHETTI, J. S.; FURUYA, W. M.; GRACIANO, T. S.; VIDAL, L. V. O.; MICHELATO, M.; CONEJERO, C. I. Redução da proteína em dietas para tilápias-do-nilo por meio da suplementação de aminoácidos com base no conceito de proteína ideal. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 40, p. 469 - 476, 2011.
- SÁ, M. V. C. Limnocultura - Limnologia para Aquicultura. 1. ed. Fortaleza, Ceará: **Editora da Universidade Federal do Ceará**, v. 1, p. 218, 2012.
- SANTOS GOMES, P. C.; FERREIRA, M. F.; VICENTE, A. M. S. Composition of the essential oils from flowers and leaves of vervain (*Aloysia triphylla* (L'Hérit.) Briton) grown in Portugal. **Journal of Essential Oil Research**, v. 17, p. 73 - 78, 2005.
- SALBEGO, J.; BECKER, A. G.; PARODI, T. V.; ZEPPENFELD, C. C.; GONÇALVES, J. F.; LORO, V. L.; MORSCH, V. M. M.; SCHETINGER, M. R. C.; MALDANER, G.; MOREL, A. F.; BALDISSEROTTO, B. Methanolic extract of *Condalia buxifolia* added to transport water alters biochemical parameters of the silver catfish *Rhamdia quelen*. **Aquaculture**, v. 437, p. 46 - 50, 2015.
- SENTI, M.; TOMAS, M.; FITO, M.; WEINBRENNER, T.; COVAS, M. I.; SALA, J.; MASIÁ, R.; MARRUGA, T. J. Antioxidant paraoxonase 1 activity in the

- metabolic syndrome. **Journal of Clinical Endocrinology e Metabolism**, v. 88, p. 422 - 426, 2003.
- SIMÕES, L. N.; LOMBARDI, D. C.; GOMIDE, A. T. M.; GOMES, L. C. Efficacy of clove oil as anesthetic in handling and transportation of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (Actinopterygii: Cichlidae) juveniles. **Zoologia-curitiba**, v. 28, p. 285 - 290, 2011.
- TAKAHASHI, L. S.; ABREU, J. S.; BILLER, J. D.; URBINATI, E. C. Efeito do ambiente pós -transporte na recuperação dos indicadores de estresse de pacus juvenis, *Piaractus mesopotamicus*. **Acta Science Animal Science**, v. 28, p. 469 – 475, 2006.
- TENÓRIO, I. V.; SOARES, M. C. F.; LOPES, J. P. Desempenho comparativo em tanques-rede de três linhagens da Tilápia do Nilo, '*Oreochromis niloticus*': Comum, Chitralada e Mestiço. **Biotemas**, v. 25, p. 65 - 72, 2012.
- TONI, C.; MARTOS-SITCHA, J. A.; RUIZ-JARABO, I.; MANCERA, J. M.; MARTÍNEZ-RODRÍGUEZ, G.; PINHEIRO, C. G.; HEINZMANN, B. M.; BALDISSEROTTO, B. Stress response in silver catfish (*Rhamdia quelen*) exposed to the essential oil of *Hesperozygis ringens*. **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 41, p. 129 - 138, 2015.
- URBINATI, E.C.; ABREU, J. S.; CAMARGO, A. C. S.; PARRA, M. A. L. Loading and transport stress of juvenile matrinxã (*Brycon cephalus*, Characidae) at avarious densities. **Aquaculture**, v. 229, p. 389 - 400, 2004.
- URBINATI, E. C.; ZANUZZO, F. S.; BILLER-TAKAHASHI, J. D. **Estresse e Sistema Imune em Peixes**. In: BALDISSEROTTO, B.; CYRINO, J. E. P.; URBINATI, E. C.(EDS). *Biologia e fisiologia de peixes neotropicais de água doce*. Jaboticabal: **FUNEP, UNESP**, p. 87 - 106, 2014.
- WENDELAAR BONGA, S.E. The Stress Response in Fish. **Physiological reviews**, Baltimore, v. 87, p. 591 - 625, 1997.
- WURTS, W.A. Using salt to reduce handling stress in channel catfish. **World Aquaculture**, v. 26, p. 80 - 81, 1995.

ZEPPENFELD, C. C.; TONI, C.; BECKER, A. G.; MIRON, D. S.; PARODI, T. V.; HEINZMANN, B. M.; BARCELLOS, L. J. G.; KOAKOSKI, G.; ROSA, J. G. S.; LORO, V. L.; CUNHA, M. A.; BALDISSEROTTO, B. Physiological and biochemical responses of silver catfish, *Rhamdia quelen*, after transport in water with essential oil of *Aloysia triphylla* (L'Herit) Britton. **Aquaculture**, v. 418 - 419, p. 101 - 107, 2014.



## CONSIDERAÇÕES FINAIS E IMPLICAÇÕES

O uso do OEAT no sistema produtivo de tilápia do Nilo, em especial para manejo e transporte, demonstrou bons resultados na mitigação do estresse. O OEAT como anestésico e sedativo demonstrou resultados satisfatórios comparados a outros produtos utilizados para a mesma finalidade, evidenciando o potencial desta substância e seus efeitos benéficos durante as etapas produtivas.

Os resultados do presente estudo contribuem para o desenvolvimento de novas tecnologias e práticas relacionadas à tilapicultura, em virtude da importância da espécie para a piscicultura aliado aos novos conhecimentos a cerca da redução de estresse com o uso do OEAT.

Portanto, uma vez comprovada a eficácia do OEAT, recomenda-se a utilização de  $300 \mu\text{L.L}^{-1}$  de OEAT para anestesia em atividades de manipulação e  $30 \mu\text{L.L}^{-1}$  de OEAT como sedativo adicionado à água de transporte para tilápia do Nilo.