



UNIVERSIDADE
E D U A R D O
MONDLANE

Escola Superior de Ciências Marinhas e Costeiras

**COMPOSIÇÃO QUÍMICA E EFEITO ANESTÉSICO DE ÓLEOS
ESSENCIAIS DERIVADOS DE PLANTAS EM TILÁPIA DO NILO
(*OREOCHROMIS NILOTICUS*)**

Dissertação para obtenção de grau de Mestre em Aquacultura Sustentável

Autora: Olímpia Marlene Domingues de Nóbrega Vaz

Quelimane, Fevereiro de 2025



Escola Superior de Ciências Marinhas e Costeiras

Dissertação para obtenção de grau de Mestre em Aquacultura Sustentável

**COMPOSIÇÃO QUÍMICA E EFEITO ANESTÉSICO DE ÓLEOS ESSENCIAIS
DERIVADOS DE PLANTAS EM TILÁPIA DO NILO (*Oreochromis niloticus*)**

Presidente do Júri

Prof. Doutor Valera Lucena Dias

UEM-Faculdade de Ciências, Departamento de Ciências Biológicas

Supervisor

Doutor Inácio Mateus Assane

Universidade Zambeze, Faculdade de Ciências Agrárias

Avaliador

Prof. Doutor Manecas Francisco Baloi

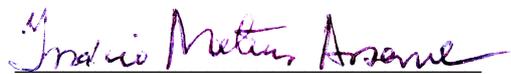
UEM-Faculdade de Veterinária

Quelimane, Fevereiro de 2025

Declaração do supervisor

Os abaixo-assinados certificam que leram e recomendam para aceitação pela Universidade Eduardo Mondlane, Escola Superior de Ciências Marinhas e Costeiras a dissertação intitulada: **COMPOSIÇÃO QUÍMICA E EFEITO ANESTÉSICO DE ÓLEOS ESSENCIAIS DERIVADOS DE PLANTAS EM TILÁPIA DO NILO (*Oreochromis niloticus*)**, como requisito para a obtenção do grau de Mestre em Aquacultura Sustentável.

Supervisor



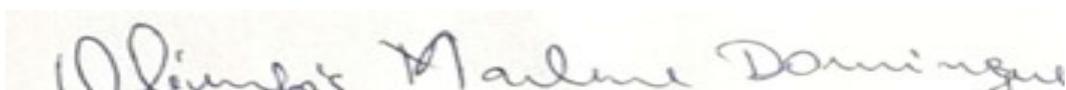
Data 24/03/2025

(Doutor Inácio Mateus Assane)

Declaração de Honra

Declaro que esta dissertação nunca foi apresentada para a obtenção de qualquer grau ou num outro âmbito e que esta constitui o resultado do meu labor individual sob orientação do supervisor. Esta dissertação é apresentada em cumprimento parcial dos requisitos para a obtenção do grau de mestre em aquacultura sustentável, da Universidade Eduardo Mondlane.

Quelimane, 5 de Fevereiro de 2025



Olímpia Marlene D. de Nóbrega Vaz

Termo de Aprovação da Dissertação

Olimpia Marlene Domingues de Nóbrega Vaz

COMPOSIÇÃO QUÍMICA E EFEITO ANESTÉSICO DE ÓLEOS ESSENCIAIS DERIVADOS DE PLANTAS EM TILÁPIA DO NILO (*Oreochromis niloticus*)

Dissertação submetida ao júri, designada pelo Reitor da Universidade Eduardo Mondlane, Escola Superior de Ciências Marinhas e Costeiras, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Aquacultura Sustentável.

Dissertação aprovada em: _____ de _____ de _____

Por:

Prof. Doutor _____

Instituição: _____

Dedicatória

Dedico este feito,

Com orgulho, as minhas filhas Analyne Larissa e Allana Luckeysse;

Com amor, ao meu esposo Augusto Lucas Vaz, pela paciência e suporte em todos os momentos desta caminhada;

Aos meus queridos e amados Pais, José Nóbrega e Cláudia Maria, pelo seu apoio incondicional e encorajamento em diferentes momentos da minha vida.

As minhas tão amadas e queridas irmãs Nizia Alexandra, Joceline Maida e Maria José, pelo vosso apoio e encorajamento nesta etapa da minha carreira estudantil.

Agradecimentos

A Deus todo o poderoso, meu refúgio e fortaleza, pelo dom da vida, pelas oportunidades que surgiram ao longo desta, por iluminar meu caminho e pela sabedoria, por me guiar e dar forças para superar as adversidades.

Ao meu carismático supervisor, Professor Doutor Inácio Mateus Assane pelos seus ensinamentos e paciência dispensada na supervisão do trabalho, bem como no processo de formação académica. Bênçãos em sua vida.

Aos demais professores do curso de Mestrado, pela forma incansável, paciente e sabia na transmissão de conhecimentos e experiências. Em especial aos professores Anildo Naftal, Valdemiro Muhala, Sidónio Chamo, Vicente Ernesto e Jorge Banze, que de forma paciente sempre atenderam as minhas inquietações.

Aos meus colegas de serviço, Instituto Oceanográfico de Moçambique (InOM) – Tete em especial ao Mestre Claque Jone Maunde, dr. Diniz Manhepe e dr. Decario Cazimbe e aos colegas do curso de Mestrado, pelo tempo que juntos passamos e no apoio mútuo na busca do conhecimento técnico-científico, pela oportunidade de criar laços de amizade verdadeira. Que Deus ilumine suas vidas.

A Empresa Chicoa Fish Farm, pelos peixes usados no experimento.

Ao InOM-Tete, pela cedência das infraestruturas para a montagem do ensaio e suporte na realização das actividades.

A todos que mesmo não estando citados, directa ou indirectamente contribuíram para materialização deste trabalho, vai o meu Muito Obrigado.

RESUMO

A utilização de óleos essenciais de origem vegetal em aquacultura tem despertado interesse devido as suas propriedades bioativas, incluindo efeitos anestésicos. Neste estudo investigou-se a composição química e o efeito anestésico de seis óleos essenciais (OEs) derivados de plantas (*Eucalyptus globulus*-OEEG, *E. citriodora*-OEEC, *Thymus vulgaris*-OETV, *Mentha piperita*-OEMP, *Melaleuca alternifolia*-OEMA e *Ocimum basilicum*-OEOB) em juvenis de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), uma espécie de relevância económica mundial. A composição química dos OEs foi determinada através de cromatografia gasosa de alta resolução acoplada a espectrometria de massa (GC/MS), e o efeito anestésico foi avaliado pelo tempo de indução a anestesia e recuperação após exposição de tilápias saudáveis (5±2 g) a 100 mg/L de OE ou lidocaína (controle positivo). O experimento *in vivo* com tilápias foi feito em triplicata. Quarenta e cinco compostos foram identificados. 1,8 cineol, *p*-cimeno, citronelal, timol, mentol, 1-terpinen-4-ol e estragol, foram os componentes maioritários do OEEG, OEEC, OETV, OEMP, OEMA e OEOB, respectivamente. Todos óleos testados demonstraram propriedades anestésicas para juvenis de tilápia. A lidocaína, OEEG e OEMA tiveram tempos de anestesia semelhantes (~30 min), OETV apresentou o menor tempo (~4 min), seguindo OEOB (~6 min). OEEC e OEMP tiveram tempos intermediários (~9 e ~23 min, respetivamente). O tempo de recuperação foi muito similar entre os grupos experimentais, com exceção do OEOB que apresentou maior tempo ($p \leq 0,003$) e mortalidade observada. OETV foi o anestésico mais eficaz, podendo ser recomendado para uso em juvenis de tilápia do Nilo. O presente estudo destaca o potencial do uso de OEs como anestésicos na piscicultura ou em pesquisas com peixes.

Palavras-chave: Aquacultura, anestesia, bem-estar animal, piscicultura.

ABSTRACT

The use of plant-derived essential oils in aquaculture has aroused interest due to their bioactive properties, including anesthetic effects. This study investigated the chemical composition and anesthetic effect of six plant-derived essential oils (EOs) (*Eucalyptus globulus* - EGEO, *E. citriodora* - ECEO, *Thymus vulgaris* - TVEO, *Mentha piperita* - MPEO, *Melaleuca alternifolia* - MAEO and *Ocimum basilicum* - OBEO) on juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*), a species of global economic importance. The chemical composition of EOs was determined through high-resolution gas chromatography coupled with mass spectrometry (GC/MS), and the anesthetic effect was assessed by the induction time to anesthesia and recovery after exposing healthy tilapia (5 ± 2 g) to 100 mg/L of EO or lidocaine (positive control). The *in vivo* experiment with tilapia was performed in triplicate. Forty-five compounds were identified. 1,8 cineole, *p* - cymene, citronellal, thymol, menthol, 1-terpinen-4-ol and estragole were the major components of EGEO, ECEO, TVEO, MPEO, MAEO and OBEO, respectively. All tested oils demonstrated anesthetic properties for juvenile Nile tilapia. Lidocaine, EGEO and MAEO had similar anesthesia times (~30 min), TVEO presented the shortest time (~4 min), followed by OBEO (~6 min). ECEO and MPEO had intermediate times (~9 and ~23 min, respectively). Recovery time was very similar among the experimental groups, except of the OBEO which had a longer time ($p \leq 0.003$) and mortality was observed. TVEO was the most effective anesthetic and can be recommended for use in juvenile Nile tilapia. This study highlights the potential of using EOs as anesthetics in aquaculture or aquaculture research.

Keywords: Aquaculture, anesthesia, animal welfare, fish farming.

Lista de Abreviaturas, Acrónimos e Siglas

% – Percentagem

µL – microlitro

ANOVA – Análise de Variância

FAO – Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura

g – grama

IDEPA – Instituto Nacional de Desenvolvimento de Pesca e Aquacultura

IIP – Instituto Nacional de Investigação Pesqueira

INAQUA – Instituto Nacional de Desenvolvimento de Aquacultura

InOM – Instituto Oceanográfico de Moçambique

ISO – *International Organization for Standardization*

L – Litro

mg – miligrama

MP – Ministério Do Mar, Águas Interiores E Pescas

OE – Óleo essencial

OEEC – Óleo essencial de *Eucalyptus citriodora*

OEEG – Óleo essencial de *Eucalyptus globulus*

OEMA – Óleo essencial de *Melaleuca alternifolia*

OEMP – Óleo essencial de *Mentha piperita*

OEOB – Óleo essencial de *Ocimum basilicum*

OETV – Óleo essencial de *Thymus vulgaris*

s – Segundo

SADC – Comunidade de Desenvolvimento da África Austral

FDA – *Food and Drug Administration*

Lista de Figuras

- Figura 1.** Tempo para anestesia e recuperação de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) anestesiadas com lidocaína (T0) e óleos essenciais de *Eucalyptus globulus* (T1), *E. citriodora* (T2), *Thymus vulgaris* (T3), *Mentha piperita* (T4), *Melaleuca alternifolia* (T5) e *Ocimum basilicum* (T6). Letras diferentes, da mesma cor, indicam diferença significativa entre os diferentes grupos experimentais.....31
- Figura 2.** Materiais e métodos: a) Óleos essenciais de plantas; b) Materiais e equipamentos; c) Caixas plásticas para aclimação dos peixes; d) Embalagens de transporte dos peixes; e) Procedimento de aclimação dos peixes antes da soltura; f) Preparação das soluções anestésicas; g) Captura dos peixes para submeter ao procedimento anestésico; h) Monitoramento comportamental dos peixes no procedimento anestésico; i) Colocação dos peixes para banhos de imersão e j) Registo dos tempos de indução anestésica e recuperação.....58

Lista de Tabelas

Tabela 1. Estágios comportamentais da anestesia em peixes.	13
Tabela 2. Estágios comportamentais de recuperação após anestesia nos peixes	13
Tabela 3. Anestésicos aprovados para uso na aquicultura	14
Tabela 4. Composição química dos óleos essenciais de <i>Eucalyptus globulus</i> (OEEG), <i>Eucalyptus citriodora</i> (OEEC), <i>Thymus vulgaris</i> (OETV), <i>Mentha piperita</i> (OEMP), <i>Melaleuca alternifolia</i> (OEMA) e <i>Ocimum basilicum</i> (OEOb).	29
Tabela 5. Mortalidade de peixes durante e após o procedimento anestésico.....	32

Índice

1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJECTIVOS.....	4
2.1. Objectivo geral:.....	4
2.2. Objectivos específicos:	4
3. REVISÃO DA LITERATURA	5
3.1. Características biológicas e comportamentais da tilápia do Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>)	5
3.2. Importância económica e nutricional da tilápia do Nilo	5
3.3. Histórico e evolução do cultivo de tilápia no mundo e em Moçambique	7
3.4. Maneio e bem-estar na aquacultura	9
3.4.1. Práticas de maneio na aquacultura	9
3.4.2. Desafios e factores de estresse no cultivo de peixes	10
3.4.3. Impacto do estresse no bem-estar e produtividade dos peixes.....	10
3.5. Anestesia em aquacultura.....	11
3.5.1. Necessidade e benefícios da anestesia em peixes	11
3.5.2. Métodos de anestesia	12
3.5.3. Comparação entre anestésicos sintéticos e naturais	14
3.5.4. Critério para a escolha de anestésicos em aquacultura	16
3.6. Uso de óleos essenciais (OEs) na aquacultura	16
3.6.1. Definição e propriedades gerais dos OEs.....	16
3.6.2. Histórico do uso de óleos essenciais em medicina veterinária e aquacultura	18
3.6.3. Vantagens e desvantagens dos óleos essenciais comparados aos anestésicos sintéticos ..	19
3.6.4. Composição química dos óleos essenciais	20
3.6.4.1. Técnicas de análise da composição química.....	20
3.6.5. Principais componentes químicos dos óleos essenciais	20
3.6.6. Variabilidade química entre diferentes óleos essenciais.....	21
3.6.7. Efeito anestésico dos óleos essenciais.....	21
3.6.7.1. Mecanismo de acção dos óleos essenciais como anestésico	21
3.6.7.2. Estudos prévios sobre o uso de óleos essenciais como anestésico para peixes.....	22
3.6.7.3. Comparação do efeito anestésico de diferentes óleos essenciais em tilápia	23
3.6.7.4. Potenciais efeitos colaterais e segurança dos óleos essenciais.....	25
3.6.8. Considerações para aplicação prática em aquacultura	26
4. MATERIAIS E MÉTODOS	26
4.1. Análise química dos óleos essenciais.....	26
4.2. Delineamento experimental	26
4.2.1. Preparação das soluções anestésicas	27
4.2.2. Avaliação do efeito anestésico	27

4.3.	Análise de Dados e comparação do efeito anestésico dos diferentes OEs.....	28
5.	RESULTADOS.....	28
5.1.	Composição química dos óleos essenciais.....	28
5.2.	Indução anestésica e recuperação	30
5.3.	Comparação do efeito anestésico dos diferentes OEs.....	31
5.4.	Mortalidade dos peixes	32
6.	DISCUSSÃO DOS RESULTADOS	33
6.1.	Composição química dos óleos essenciais.....	33
6.2.	Indução anestésica e recuperação	36
6.3.	Comparação do efeito anestésico dos diferentes OEs.....	44
6.4.	Mortalidade dos peixes	45
7.	CONCLUSÃO	46
8.	RECOMENDAÇÕES	47
9.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	48
	ANEXO A. Materiais e métodos	58

1. INTRODUÇÃO

A produção animal proveniente da aquacultura apresenta um crescimento contínuo a nível mundial, principalmente a piscicultura. Essa expansão é acompanhada do aumento da procura e consumo do pescado (De M.SOUZA *et al.*, 2019). Segundo dados da Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO, 2024a), em 2022, a produção global da aquacultura atingiu 130,9 milhões de toneladas de pescado, com um aumento de 8,1 milhões de toneladas em relação a 2020, correspondente a um crescimento de 7,6%. Atualmente, o sector contribui com 57% de proteína animal destinada ao consumo humano, sendo a produção da aquacultura de águas interiores a mais dominante, com 62,9% e o grupo dos peixes contribuiu com 89,7%, seguida por crustáceos 8,7% (FAO, 2024a). Pela primeira vez, em 2022 a produção aquícola superou a produção da pesca extrativa em 51%, e espera-se que esta continue a aumentar até 2032 em 17%, suprimindo deste modo a necessidade por produtos de origem aquática em até 90% e a mesma será destinada para o consumo humano a uma taxa de 21,3kg per capita (FAO, 2024a).

A tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) está entre as espécies de peixes mais cultivadas mundialmente. Em 2022, esta espécie contribuiu com 5,3 milhões de toneladas na produção de organismos aquáticos (FAO, 2024a). Os ganhos genéticos obtidos através dos programas de melhoramento genético bem estruturados, como o *Genetic Improvement of Farmed Tilapia* (GIFT), iniciado nos princípios da década 80 (GIFT, 1993), permitiu chegar a linhagens de tilápia do Nilo com bons indicadores zootécnicos, possuindo boa adaptação a diferentes condições de cultivo (HOHLENWERGER *et al.*, 2016), alta taxa de conversão alimentar, rápido crescimento, resistência às principais doenças que afectam a espécie em ambientes de produção (OLIVEIRA-NETO *et al.*, 2024).

Na produção comercial de tilápia do Nilo, variadas práticas de rotina na criação propiciam situações de estresse para os animais, comprometendo a saúde e o bem-estar dos mesmos, a produção e produtividade do sistema de produção (SENA *et al.*, 2016; TEIXEIRA *et al.*, 2018). O transporte, a vacinação e a biometria acompanhada de classificação dos animais estão entre as práticas que mais criam situações de estresse na produção. O estresse induzido por tais práticas predispõe os peixes a doenças (De M.SOUZA *et al.*, 2019) e pode causar altas taxas de morbidade e mortalidade, afetando significativamente a produção e produtividade do sistema de produção. Para reduzir o estresse e facilitar o trabalho nos procedimentos de rotina na produção dos peixes, o uso de anestésicos tem sido uma prática

cada vez mais comum na piscicultura e estes são usados para reduzir o estresse dos animais e facilitar as actividades como a biometria, transporte, reprodução controlada, vacinação, triagem de espécimes, biopsia, colecta de sangue, cirurgia, rotulagem e eutanásia (AYDIN e BARBAS, 2020). No entanto, os anestésicos sintéticos frequentemente utilizados na aquicultura são caros, em alguns países a sua venda é controlada pelo Exército (o que dificulta a aquisição), e podem provocar efeitos colaterais nos peixes, como danos e irritação na córnea, pele e brânquias, contrações musculares involuntárias, comportamento agitado, secreção excessiva do muco e resíduos no ambiente (AYDIN e BARBAS, 2020; HOHLENWERGER *et al.*, 2017; MAZANDARANI e HOSEINI, 2017). Em contrapartida, o uso de óleos essenciais (OEs) derivados de plantas como anestésicos permite reduzir o estresse, causar menos impacto ambiental, enquanto se reduzem os efeitos colaterais e se contribui para o bem-estar dos peixes. (AYDIN e BARBAS, 2020; De M.SOUZA *et al.*, 2019).

Os OEs são compostos bioativos, líquidos, incolores ou amarelados, com odor característico (ALMEIDA *et al.*, 2020), produzidos como resultado do metabolismo secundário das plantas, são solúveis em álcool, obtidos de diversas partes da planta por destilação a vapor ou prensagem do material vegetal (VENTURA *et al.*, 2020; VITTI e BRITO, 2003). Os OEs são formados por uma mistura de componentes químicos como os ésteres, aldeídos, cetonas, terpenos e fenilpropanoides, cuja a proporção e diversidade variam conforme a espécie, parte da planta, tipo do solo de cultivo, disponibilidade de água, intensidade da luz durante o cultivo, época de colheita e até aos relacionados ao processo de obtenção (método de extração) (ASSANE *et al.*, 2021). Pesquisas recentes têm demonstrado suas propriedades bioativas, tais como actividade antimicrobiana (ASSANE *et al.*, 2021), anti-inflamatória (MENG *et al.*, 2022), antifúngica, antioxidante (HOU *et al.*, 2022), antiparasitária (Da COSTA *et al.*, 2017) e imunomoduladora (VALLADÃO *et al.*, 2019), que possibilitam aumentar o bem-estar e a resistência de peixes a doenças infecciosas e parasitárias. Além disso, evidências indicam que estes podem promover o crescimento quando utilizados como suplementos na dieta alimentar (DAWOOD *et al.*, 2022; YOUSEFI *et al.*, 2018). Os OEs também são menos tóxicos, têm maior potencial de biodegradação e apresentam menor risco de seleção de patógenos resistentes. Alguns OEs demonstram eficácia como anestésicos, comparáveis aos anestésicos sintéticos (AYDIN e BARBAS, 2020; DAWOOD *et al.*, 2021; GABRIEL *et al.*, 2022; MAZANDARANI e HOSEINI, 2017; De M.SOUZA *et al.*, 2019). Esta propriedade sedativa e anestésica é associada as substâncias químicas contidas na

composição do OE, tornando assim necessária a avaliação da composição química de cada OE para determinar o seu potencial anestésico.

Estudos recentes sugerem que substâncias como o eugenol, mentol, mircenol, 1,8-cineol, linalol, limoneno, citronelal, timol (AZAD *et al.*, 2014; YOUSEFI *et al.*, 2018), carvacrol, espatulenol, γ -terpineno, α -terpineno, acetato de 4-alilfenil, globulol, 1-terpinen-4-ol (AYDIN e BARBAS, 2020), geraniol, óxido cariofileno, desidrofuquinona (HOSEINI *et al.*, 2019) e estragol (YIGIT *et al.*, 2022) contido nos OEs são eficazes para a sedação e anestesia de peixes. Contudo, os mecanismos anestésicos específicos dos OEs ainda não estão completamente elucidados. A libertação de neurotransmissores, através ruptura da membrana celular; a modulação dos neurotransmissores, como o sistema ácido gama-aminobutírico (GABA) e o glutamato; a redução da actividade do sistema nervoso central, através do bloqueio de canais iónicos e, a redução do estresse oxidativo, através das propriedades antioxidantes, estão entre os prováveis mecanismos associados aos efeitos sedativos e anestésicos dos OEs (BRANDÃO *et al.*, 2021; GABRIEL *et al.*, 2022; HOSEINI *et al.*, 2019; ROSS e ROSS, 2008; VENTURA *et al.*, 2020). Atualmente, o potencial anestésico dos OEs em peixes é avaliado através das respostas fisiológicas, bioquímicas e comportamentais dos peixes à exposição do anestésico (HOSEINI *et al.*, 2019; ROSS e ROSS, 2008).

Considerando a necessidade de buscar novas alternativas de anestésicos que sejam baratos e de fácil aquisição para os aquacultores e que representem menor risco para a saúde do animal, humana e ambiental, neste estudo investigou-se a composição química e o efeito anestésico de seis OEs derivados de plantas (*Eucalyptus globulus*-OEEG, *Eucalyptus citriodora*-OEEC, *Thymus vulgaris*-OETV, *Mentha piperita*-OEMP, *Melaleuca alternifolia*-OEMA e *Ocimum basilicum*-OEOb) em juvenis de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). A escolha dos OEs foi com base nas inúmeras potencialidades terapêuticas e a dose dos OEs foi baseada na concentração padrão usada para o anestésico sintético.

2. OBJECTIVOS

2.1. Objectivo geral:

- Estudar o potencial anestésico dos óleos essenciais de *Eucalyptus globulus*, *E. citriodora*, *Thymus vulgaris*, *Mentha piperita*, *Melaleuca alternifolia* e *Ocimum basilicum* em tilapia do Nilo (*Oreochromis niloticus*).

2.2. Objectivos específicos:

- Determinar a composição química dos óleos essenciais de *E. globulus*, *E. citriodora*, *T. vulgaris*, *M. piperita*, *M. alternifolia* e *O. basilicum*;
- Avaliar o efeito anestésico dos óleos essenciais de *E. globulus*, *E. citriodora*, *T. vulgaris*, *M. piperita*, *M. alternifolia* e *O. basilicum* em tilapia do Nilo e
- Comparar o efeito anestésico dos diferentes óleos estudados.

3. REVISÃO DA LITERATURA

3.1. Características biológicas e comportamentais da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*)

Tilápia é o termo comum mais utilizado para descrever os variados gêneros e espécies de peixes da família Cichlidae. A tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) é um peixe do grupo dos teleósteos, ordem perciforme, pertencente a subfamília Pseudocrenilabrinae (BARRETO-CURIEL *et al.*, 2015). É uma espécie omnívora, que se alimenta de plâncton, plantas aquáticas, pequenos invertebrados, fauna bentônica e detritos orgânicos. Tem o corpo coberto de escamas cicloides e apresenta um bom desenvolvimento em temperaturas que variam de 25 a 30°C (BARRETO-CURIEL *et al.*, 2015) e é naturalmente de comportamento agressivo (MAPA, 2022). Na época de reprodução o macho faz o ninho, e a fertilização é externa e as fêmeas apresentam cuidados parentais com a incubação dos ovos e proteção das larvas na boca, proporcionando assim alta sobrevivência das mesmas (SANCHES e MORALES, 2012). Em cativeiro são facilmente reproduzidas, tem alta taxa de fertilidade, rápido crescimento, aceita facilmente alimentação artificial (rações) (BARRETO-CURIEL *et al.*, 2015), são resistentes a doenças e ao estresse (EL-SAYED, 2006; EL-SAYED e FITZSIMMONS, 2023).

3.2. Importância econômica e nutricional da tilápia do Nilo

A tilápia do Nilo é uma espécie nativa dos corpos de água do continente africano, esta espécie foi introduzida em várias regiões do mundo, principalmente no sudeste da Ásia e Américas, durante a segunda metade do século 20, com intenção de controle de insectos e ervas aquáticas, para fins de aquacultura, pesca recreativa e pesquisa, tornando-se assim uma das espécies mais importante para aquacultura mundialmente (EL-SAYED e FITZSIMMONS, 2023).

O cultivo de organismos aquáticos é conhecido como aquacultura, e este é o sector de produção animal de origem aquática que mais cresce no mundo, principalmente o cultivo de peixes. Essa expansão e crescimento da actividade está relacionada com o aumento pela procura mundial por pescado (De M.SOUZA *et al.*, 2019). A aquacultura tem sido uma alternativa para aumentar a produção de pescado e garantir a segurança alimentar e nutricional a nível mundial, onde a produção dominante vem da aquacultura de água doce, fornecendo alimentos para milhões de pessoas, gera renda familiar, empregos e desempenha um papel importante na economia (ALY e ALBUTTI, 2014; EL-SAYED e FITZSIMMONS, 2023).

Segundo a FAO (2024a), a produção global da aquacultura atingiu cerca de 130,9 milhões de toneladas em 2022 avaliadas em 313 mil milhões de dólares, com aquacultura de águas interiores a dominar a produção contribuindo com 62,9%, a tilápia do Nilo a contribuir com 5,3 milhões de toneladas e criados 36% de postos de trabalho a nível global. Pela primeira vez a produção da aquacultura superou a produção pesqueira em 51%, e desta produção 57% foi destinada ao consumo humano, aumentando assim o consumo per capita em 20,7 kg. A Ásia contribuiu com 91,4%, seguida pela América Latina e Caribe com 3,3 %, Europa com 2,7%, África com 1,9%, América do Norte com 0,5 % e Oceânia com 0,2 % da produção global, continuando a China a liderar a produção aquícola, seguida pela Índia, Indonésia, Vietnam, Bangladesh, Filipinas, Coreia, Noruega, Egipto e Chile, contribuindo com 89,8% da produção a nível global (FAO, 2024a).

O continente africano contribuiu para produção da aquacultura com cerca de 2,3 milhões de toneladas em 2022 e o Egipto foi o líder da produção aquícola do continente. Espera-se alcançar até 2032 um aumento na produção da aquacultura a nível mundial em 17%, continuando a Ásia a dominar o sector em 89% gerando um aumento de mais de 91% da produção global e desta produção cerca de 90% serão destinadas ao consumo humano, a uma taxa de 31,3kg per capita. Espera-se também uma expansão da aquacultura em África em cerca de 21% correspondendo a 2,8 milhões de toneladas e desta contribuição cerca de 1,9 milhões de toneladas será produzido pelo Egipto até 2032 (FAO, 2024a).

Os alimentos de origem aquática são conhecidos mundialmente como sendo potenciais para a garantia da segurança alimentar e nutricional pois fornecem proteínas de boa qualidade, nutrientes essenciais incluindo omega-3, numerosos minerais e vitaminas (FAO, 2024a; SANCHES e MORALES, 2012).

A composição nutricional da carne da tilápia é influenciada pelas condições de cultivo, mas ela é rica em proteínas, contém aminoácidos essenciais, baixo teor de carboidratos (1%), omega-3 e 6, vitaminas (A, E, D, B₁, B₃, B₅, B₆, B₁₂, ácido ascórbico e fólico) e minerais (cálcio, fosforo, potássio e ferro) importantes para a saúde (SANCHES e MORALES, 2012). É importante promover e recomendar o consumo da carne de tilápia, pois ela apresenta na sua composição bioquímica lipídios importantes para a saúde, é um peixe de sabor suave, carne de boa qualidade, com cor, odor e textura agradável, rico em proteínas completas, baixo teor de carboidratos, contém muitas e variadas vitaminas e minerais (SANCHES e MORALES, 2012), ausência de espinhos em forma de Y dentro do musculo, fácil de filetar, baixo teor de gordura (DUARTE, 2017), por isso deve ser incluído com maior frequência na dieta

alimentar para prevenir e reduzir doenças do coração, aterosclerose, Alzheimer, Parkinson, combate à desnutrição, é recomendado o consumo para as mulheres grávidas para evitar má formação do feto, favorecem no processo de aprendizagem e desenvolvimento das crianças, melhora o estado de saúde do consumidor principalmente no controle da obesidade, diabetes, níveis de colesterol no sangue e previne também o desenvolvimento de doenças mentais (DUARTE, 2017; SANCHES e MORALES, 2012).

3.3. Histórico e evolução do cultivo de tilápia no mundo e em Moçambique

A prática de cultivar peixes em águas interiores e nos mares é antiga. Estima-se que o cultivo de tilápia do Nilo iniciou 4000 A.C., no Egito, cerca de 1000 anos antes do cultivo das carpas na China (EL-SAYED e FITZSIMMONS, 2023). Atualmente, a piscicultura é uma actividade praticada em todo mundo, sendo a tilápia do Nilo uma das espécies mais produzidas comercialmente e altamente dispersa em diversos ambientes e condições climáticas (EL-SAYED e FITZSIMMONS, 2023).

A tilápia do Nilo é um peixe de água doce que pertence à família dos ciclídeos, é nativa do continente africano. Esta foi introduzida em várias regiões tropicais, subtropicais e temperadas do mundo, durante a segunda metade do século 20. A introdução nestas regiões foi para finalidade aquícola, pesca desportiva ou recreativa, controle de ervas aquáticas e para fins de pesquisa (EL-SAYED e FITZSIMMONS, 2023). Pelos seus atributos, tais como rápido crescimento, tolerância a mudanças das condições ambientais, resistência ao estresse e doenças, facilidade de reprodução em cativeiro e pelo facto da espécie também aceitar facilmente o consumo de alimento artificial (ração), foi considerada ideal para aquacultura (EL-SAYED e FITZSIMMONS, 2023).

O desenvolvimento do cultivo da tilápia do Nilo passou por diferentes fases. Antes de 1970, a contribuição global da produção de tilápia na aquacultura era muito baixa, representando 1% e era desenvolvida em poucos países (12), de 1970 a 1990 o cultivo de tilápia do Nilo expandiu-se gradualmente no mundo e o número de países que praticavam o cultivo aumentou para 78, representando uma contribuição de 2,28% (EL-SAYED, 2006). De 1990 a 2002 a produção de tilápia do Nilo continuou a crescer até cerca de 2,93% da produção mundial (EL-SAYED, 2006). Atualmente, a produção a nível global da tilápia do Nilo é de cerca de 5,3 milhões de toneladas, ocupando a quarta posição no top 10 das espécies mais produzidas no mundo (FAO, 2024a).

O cultivo de peixes em Moçambique teve o seu início em 1950, com a construção de tanques de terra para o cultivo de peixes, destinada para o consumo dos trabalhadores agrícolas nas províncias da Zambézia, Nampula e Manica. Posteriormente, em meados da década 60, foram construídos pelo governo três centros de pesquisa e demonstração em Umbelúzi (0,5 ha), Sussudenga (20 ha) e Chokwé (1,6 ha), com principal objectivo de repovoamento de barragens, lagos e reservatórios naturais. Estas infraestruturas foram abandonadas durante a guerra civil (INFOSA, 2009).

A produção comercial da aquacultura em Moçambique teve início nos finais da década 90, nas províncias de Cabo-Delgado, Zambézia e Sofala, viradas para o cultivo de espécies marinhas como o camarão e algas, que mais tarde foi afectada pelo surgimento da doença da mancha branca, colapsando assim o cultivo comercial do camarão marinho. A piscicultura comercial surgiu no ano 2000 nas províncias de Manica e Tete com o cultivo de tilápia e mais tarde surgiram iniciativas comerciais de cultivo de peixe e camarão marinho em Cabo-Delgado e Zambézia (IDEPA, 2020).

Moçambique é um país com potencialidades para o desenvolvimento da aquacultura em águas interiores e marinhas, por apresentar uma costa que se estende por mais de 2.780 km, classificada como sendo a terceira mais longa da parte continental de África, e com vários rios, lagos e represas. O potencial produtivo total para aquacultura no país é estimado em cerca de 4.000.000 toneladas/ano dos quais 2.000.000 toneladas/ano potencial estimado para a produção de peixes em águas interiores e 2.000.000 toneladas/ano para a produção de espécies marinhas, com uma área total com potencial de produção estimada em 378.000 hectares, dos quais cerca de 258.000 hectares para águas interiores e 120.000 hectares para aquacultura marinha. (IDEPA, 2020). Apesar das enormes potencialidades disponíveis, que vão desde os recursos hídricos, condições ecológicas adequadas e disponibilidade de espécies nativas propícias para o desenvolvimento da aquacultura, o país possui esta actividade ainda pouco desenvolvida, de forma dispersa e em regime de subsistência, pelas comunidades, com uma presença reduzida de produtores comerciais (IDEPA, 2020; MUHALA *et al.*, 2021).

A produção piscícola em Moçambique é dominada pelas espécies de água doce e a mais cultivada é a tilápia do Nilo, devido as suas diversas vantagens, como o rápido crescimento, tolerância as mudanças ambientais e as vantagens associadas as melhorias genéticas pelas quais a espécie passou (OLIVEIRA-NETO *et al.*, 2024). Esta actividade é maioritariamente desenvolvida em tanques escavados e tanques-rede. A produção aquícola do país em 2022 foi cerca de 5.519 toneladas (FAO, 2024b), onde os produtores de pequena escala são os maiores

contribuintes da produção aquícola. Esta contribuição deve-se as intervenções do governo para a massificação da aquacultura no seio dos produtores agrícolas e comunidades locais no geral (MP, 2008).

Em Moçambique o desenvolvimento da aquacultura de pequena escala tem enfrentado diversos desafios, que vão desde a falta de mão-de-obra qualificada, a falta de insumos de qualidade, o deficiente acesso as tecnologias de produção, ineficientes serviços de assistência técnica aos produtores, bem como a falta de acesso ao financiamento para o investimento (IDEPA, 2020; MUHALA *et al.*, 2021).

Atualmente, a produção piscícola é praticada de forma extensiva, maioritariamente para subsistência. Devido à falta de ração comercial acessível aos produtores de pequena escala, os mesmos recorrem a utilização de alimentos alternativos como subprodutos agrícolas e restos de comida, como sendo uma solução alternativa para o problema da falta de ração comercial de qualidade. A avaliação da qualidade da água não é observada pelos produtores por falta de instrumentos, equipamentos e assistência técnica, tendo como única forma de melhorar a qualidade de água, a troca regular adoptada por estes. Contudo, a falta de equipamentos para bombear água é um outro problema enfrentado pelos piscicultores de pequena escala (MUHALA *et al.*, 2021).

3.4. Maneio e bem-estar na aquacultura

3.4.1. Práticas de maneio na aquacultura

Na produção de peixes as práticas de maneio com o peixe vivo como, o transporte, povoamento, captura, biometria, reprodução artificial, marcação, etiquetagem, contagem, injeção e operações cirúrgicas são algumas das actividades de rotina inevitáveis, tais actividades criam estresse nos peixes (HASIMUNA *et al.*, 2020) e estas práticas de rotina iniciam desde a produção de larvas até a colheita e abate (MAPA, 2022).

O bem-estar dos animais cultivados em cativeiro reflete o quão bem este animal está biológica, comportamental e emocionalmente em interação com o ambiente de cultivo, este bem-estar animal se reflete sobre a nutrição, ambiente físico, saúde, interação comportamental e indicadores fisiológicos (ROSS e ROSS, 2008).

Desde a produção de larvas até a fase da colheita e abate dos animais, as boas práticas de maneio (BPMs) e medidas de mitigação de estresse (MMEs) na aquacultura são necessárias. Estas medidas consistem em evitar altas densidades de povoamento, garantir boa qualidade de água e ambiente adequado de cultivo, construção adequada dos tanques, protecção de

predadores, adoção de medidas de manejo preventivas de doenças, boa planificação dos procedimentos de colheita e transporte dos animais vivos, nutrição de qualidade e ajuste alimentar adequado para a espécie e idade do animal (MAPA, 2022), visando a manutenção de um bom ambiente de criação, com resultados na melhoria da produção e da qualidade do pescado produzido, bem como a garantia da segurança ambiental (FERREIRA e BARCELLOS, 2008).

3.4.2. Desafios e factores de estresse no cultivo de peixes

Na prática da aquacultura, a restrição de espaço, altas densidades de cultivo, frequência e variação dos procedimentos de rotina na produção, cultivo de um só sexo, ambiente sem esconderijos, são estímulos para os quais o bem-estar dos animais nas condições de cativeiro, fica comprometido (MAPA, 2022).

O estresse imposto aos animais durante o processo de cultivo, bem como os procedimentos de captura, biometria, transporte, assim como a deterioração da qualidade de água, activam o sistema de estresse nos animais induzindo efeitos negativos em diferentes processos fisiológicos como o crescimento e reprodução (Da SILVA *et al.*, 2021; De F. SOUZA *et al.*, 2019; HOHLENWERGER *et al.*, 2016; MAZANDARANI *et al.*, 2017; TONDOLO, 2011), alterações metabólicas, bioquímicas, imunológicas, endócrinas, neurais e até mesmo comportamentais (SACCOL, 2016).

Contudo os desafios de manter os peixes livres de estresse, doenças, mortalidade e com adequado bem-estar, começa com a adoção de boas práticas de manejo e medidas de mitigação do estresse (MAPA, 2022), garantia de nutrição de qualidade, boa qualidade de água do cultivo, instalações adequadas e com a implementação de planos de biossegurança, que vão deste a fase de produção de larvas até a colheita e abate (FERREIRA e BARCELLOS, 2008), reduzindo assim o uso de antimicrobianos e resistência bacteriana, o impacto ambiental dos sistemas de produção, garantindo um produto final de alta qualidade com maior valor comercial e nutricional (MAPA, 2022).

3.4.3. Impacto do estresse no bem-estar e produtividade dos peixes

O estresse pode ser definido como sendo uma perturbação interna ou externa a um determinado organismo, causando um desequilíbrio no seu estado fisiológico normal (De F. SOUZA *et al.*, 2019) e os agentes causadores do estresse podem ser classificados como físicos (temperatura, luz, som), químicos (má qualidade de água, contaminação, composição da dieta, acumulo de resíduos como amônia e nitritos), biológicos (superlotação, competição

por espaço, refúgio e alimento, presença de predadores, presença de parasitas) e práticos (transporte, biometria e pesca) (FERREIRA e BARCELLOS, 2008).

Sub efeito de um agente causador do estresse, os peixes têm a capacidade natural de responder fisiologicamente, e esta resposta ao agente causador do estresse, em curto prazo preserva a saúde do animal, no entanto quando o estresse é excessivo, intenso e prolongado, a resposta ao agente causador do estresse pode afetar a saúde desse animal, diminuindo a eficiência digestiva, reduzir o crescimento, afectar a reprodução, criar maior susceptibilidade a doenças, parasitas e causar altas taxas de morbidade e mortalidade (FERREIRA e BARCELLOS, 2008; SACCOL, 2016; De M.SOUZA *et al.*, 2019).

Devido ao estresse causado pelo transporte e procedimentos de rotina na produção, as respostas mais comuns ao estresse, são o aumento dos níveis de cortisol e da glicose no plasma dos peixes, o desequilíbrio hormonal e hidromineral, (BOAVENTURA *et al.*, 2020; MAZANDARANI *et al.*, 2017), assim como alteração das funções enzimáticas e hepática dos animais, sendo as enzimas aspartato aminotransferase (AST) e alanina aminotransferase (ALT) ambos também indicadores de estresse (BOAVENTURA *et al.*, 2020).

A redução no desempenho zootécnico, com menor ganho de peso e redução do crescimento, pode ser observada nos peixes cultivados em situação de estresse. Nos reprodutores observa-se a redução da quantidade e tamanho dos ovos com baixas taxas de eclosão, lavas e alevinos de pouca qualidade, isto ocorre devido ao gasto energético utilizado para promoção das alterações fisiológicas provocadas pela resposta ao agente causador do estresse, comprometendo a produtividade e a qualidade da produção (mudanças na característica do pescado, período de rigor-mortis reduzido) (FERREIRA e BARCELLOS, 2008).

3.5. Anestesia em aquicultura

3.5.1. Necessidade e benefícios da anestesia em peixes

O processo de anestesia em peixes envolve várias fases comportamentais incluindo a sedação, imobilização, inconsciência e analgesia (TONI, 2015). A anestesia pode ser definida como sendo uma condição biológica com a presença parcial ou perda completa de sentidos e do controle neuromotor voluntário, que pode ser induzido por meios químicos ou não químicos. Enquanto, a sedação caracteriza-se pela redução da sensibilidade mas sem perder o equilíbrio, sendo este o primeiro estágio comportamental da anestesia em peixes (ROSS e ROSS, 2008).

Os anestésicos para peixes são divididos em produtos de origem sintética e naturais (a base de plantas). O uso de anestésicos em peixes é importante para garantir a facilidade do trabalho de rotina durante os procedimentos na aquacultura, indivíduos saudáveis, permitir a prevenção de lesões físicas e proporcionar bem-estar dos animais (AYDIN e BARBAS, 2020; ROSS e ROSS, 2008).

A adição de anestésicos na água de transporte de peixes vivos de alto valor comercial é uma prática comum durante estas operações, principalmente para garantir a integridade física dos animais, reduzir a actividade e a possibilidade de ocorrência de lesões, reduzir também o metabolismo, enquanto se minimiza o consumo de oxigénio e a excreção de amônia que é tóxico para os peixes. Desta forma, é possível melhorar o bem-estar dos peixes durante o transporte e minimizar as perdas por mortalidade (FREIRE *et al.*, 2019).

3.5.2. Métodos de anestesia

Segundo Boaventura *et al.* (2020), a anestesia nos peixes pode ser feita de três formas, a injeção, aspersão branquial e a inalação. A inalação é o método mais simples e mais utilizado em actividade de anestesia para peixes nos procedimentos de rotina na aquacultura. Neste método, a substância anestésica é adicionada a água, sendo facilmente homogeneizada e absorvida pelas brânquias dos peixes, difundindo-se para o sangue é transportada até aos neurónios do sistema nervoso central. Os anestésicos interagem com os componentes da membrana celular dos axónios nervosos induzindo a libertação de neurotransmissor que agem na depressão do sistema nervoso central. No procedimento da anestesia por inalação, o anestésico é inalado pelo peixe e as moléculas do anestésico se difundem rapidamente para a corrente sanguínea e para o sistema nervoso central. No retorno dos peixes a água limpa, livre da solução anestésica, os anestésicos ou seus metabolitos são frequentemente excretados pelos peixes através da pele, guelras e pelos rins (MARQUES *et al.*, 2021; MODEDE e AWOPETU, 2022; ROSS e ROSS, 2008).

A monitoria dos efeitos de um anestésico nos peixes pode ser feita através de respostas fisiológicas, bioquímicas e comportamentais. O estado oxidativo, os níveis de cortisol e da glicose no plasma dos peixes, o equilíbrio hidromineral, o estado imunológico e o consumo de ração são variáveis amplamente utilizadas para monitorar os efeitos dos anestésicos na saúde dos peixes (HOSEINI *et al.*, 2019). Segundo S.Santos *et al.* (2016), as reacções comportamentais dos peixes quando expostos aos anestésicos apresentam 6 estágios comportamentais da anestesia. No primeiro estágio, ocorre a diminuição do movimento dos opérculos; no segundo, inicia a perda de reacção a estímulos externos; no terceiro estágio

ocorre a perda parcial do equilíbrio, que é caracterizado pelo movimento natatório descoordenado, intercalado na posição normal e por movimentos de lado; no quarto, acontece a perda total de equilíbrio e redução dos batimentos operculares; no quinto, a perda total de todos os reflexos e no sexto estágio ocorre a perda de ventilação e morte (Tabela 1).

Tabela 1. Estágios comportamentais da anestesia em peixes.

Estágio	Descrição	Resposta comportamental
I	Sedação leve	Reacção a estímulos externos, movimentos reduzidos, batimentos operculares mais lentos, equilíbrio normal.
II	Sedação profunda	Perda total da reacção a estímulos externos, excepto por forte pressão, leve queda do movimento opercular, equilíbrio normal.
III	Narcose	Perda parcial do tónus muscular, natação errática, aumento dos movimentos operculares, reacção apenas a fortes estímulos táctil ou vibração.
IV	Anestesia profunda	Perda total do tónus muscular, perda total do equilíbrio, batimentos operculares lentos, porém regular.
V	Anestesia cirúrgica	Ausência total de reacção mesmo a fortes estímulos, movimentos operculares lentos e irregulares, perda total de todos os reflexos
VI	Colapso medular	Perda da ventilação, parada cardíaca, morte.

Fonte: S.Santos *et al.* (2016)

As respostas comportamentais da recuperação dos peixes após anestesia (Tabela 2), incluem a retoma do equilíbrio, da capacidade de nado e da reacção a estímulos visuais e tácteis (VIDAL *et al.*, 2008).

Tabela 2. Estágios comportamentais de recuperação após anestesia nos peixes

Estágio	Resposta comportamental
I	Reaparecimento dos movimentos operculares
II	Retorno parcial do equilíbrio, movimento das barbatanas peitoral e caudal
III	Recuperação total do equilíbrio
IV	Natação e recuperação parcial da reacção a estímulos externos

Fonte: Vidal *et al.* (2008)

3.5.3. Comparação entre anestésicos sintéticos e naturais

Para reduzir os efeitos dos agentes causadores do estresse durante os procedimentos de rotina na aquacultura, a utilização de anestésicos tem-se tornado eficaz, pois em doses específicas e períodos de exposição adequados, podem reduzir o metabolismo e diminuir a actividade física dos peixes, resultando em menor consumo de oxigénio, menor produção de compostos nitrogenados, menor atrito entre os animais e redução de lesões físicas, assim como a redução da mortalidade (AZAD *et al.*, 2014; BRANDÃO *et al.*, 2021; De M.SOUZA *et al.*, 2019; VIDAL *et al.*, 2008).

Na piscicultura comercial, são utilizados anestésicos sintéticos. Atualmente, os anestésicos são aprovados para uso em peixes em diferentes países (Tabela 3). Destes, a benzocaína e a tricaina (MS-222) são os mais utilizados. Contudo, estes anestésicos são de difícil acesso e alto custo para os produtores (CALDEIRA *et al.*, 2022; CORREIA, 2015; GABRIEL *et al.*, 2022; HASIMUNA *et al.*, 2020; SIMÕES e GOMES, 2009), sem contar que podem apresentar efeitos indesejados para os peixes, assim como para o manipulador e meio ambiente. Os efeitos indesejados relatados sobre o uso dos anestésicos sintéticos nos peixes, foram a indução de estresse com alteração dos níveis de lactato, cortisol e glicose no plasma sanguíneo, das enzimas hepáticas, a depressão das funções cardiovasculares e respiratórias (L.SANTOS, 2022), bem como provocar alterações morfológicas e afectar o estado imunológico dos peixes (AYDIN e BARBAS, 2020). Ademais, a permanência de seus resíduos nos peixes e no ambiente podem ocasionar problemas de saúde humana e ambiental (BRANDÃO *et al.*, 2021).

Tabela 3. Anestésicos aprovados para uso na aquacultura

Pais	Anestésico	Tempo de carência	Comentários	Fonte
Reino Unido	MS-222	10 dias	Não especificada a temperatura	Syndel (2024)
Estados Unidos da América	MS-222	21 dias	Usado em peixes para alimentação	FDA (2024)
União Europeia	MS-222		Variável	Topic Popovic <i>et al.</i> (2012)
	MS-222			
	Benzocaina			
	Aqui-S			

Noruega	Metomidato	ns		Schroeder <i>et al.</i> (2021)
Filipinas	MS-222	ns	Usado em peixes para alimentação e ornamentais	The ASEAN Secretariat (2013)
	Aqui-S			
	Fenoxietanol			
Indonésia	MS-222	21 dias		
	Aqui-S	ns		
	Fenoxietanol			
Malásia	MS-222	ns		
	Aqui-S			
	Tranquil (Aquacalm)			
	Benzocaina			
Tailândia	MS-222	ns		
	Aqui-S			
	Fenoxietanol			
	Quinaldina			
	Benzocaina			
Índia	MS-222	ns		Singh e Singh (2018)
Nova Zelândia	Aqui-S	zero	Usado em peixes para alimentação	AQUI-S New Zealand (2024)
Austrália				
Vietnam				
Chile				
Islândia				
Ilhas Faroe				

ns: não especificado

A lidocaína é um anestésico sintético pertencente ao grupo das aminas, caracterizado por rápida acção (ANDRADE, 2010). A lidocaína solução 2% é um anestésico já testado em procedimentos cirúrgicos em peixes-zebra (*Danio rerio*), por banhos de imersão (CHEREEN *et al.*, 2014) e tilápia do Nilo, aplicado no músculo dorsal (C.CAVALCANTE *et al.*, 2013). Este é considerado não tóxico, de fácil uso, ambientalmente aceitável, acessível, amplamente utilizado para anestesia em peixes e até em répteis como a tartaruga de cabeça mole (MODEDE e AWOPETU, 2022). Este anestésico pode ser aplicado separadamente ou associado a outros anestésicos ou outras substâncias, como bicarbonato de sódio (ABBAS *et al.*, 2006; PARK *et al.*, 2006). É muito utilizado como anestésico em intervenções cirúrgicas em pecuária, outro factor positivo do uso da lidocaína é a sua rápida degradação no meio ambiente (NEYRÃO *et al.*, 2024).

A utilização de anestésicos de origem natural a base de plantas, surge pela necessidade de encontrar novas substâncias que sejam eficazes, seguras, acessíveis e de baixo custo para os produtores. Os óleos essenciais de plantas podem ser usados como anestésicos naturais para peixes em diversos procedimentos laboratoriais ou de rotina na piscicultura, pois vários OEs

são considerados seguros tanto para os peixes como para o manipulador e o meio ambiente (AYDIN e BARBAS, 2020).

3.5.4. Critério para a escolha de anestésicos em aquacultura

Um mesmo agente anestésico pode ser considerado como sendo sedativo (calmante) e/ou anestésico, dependendo da concentração ou dose aplicada, tempo de exposição e o efeito que causa no organismo (TONI, 2015). Contudo, o anestésico ideal deve induzir anestesia rápida (1 a 5 minutos) e rápida recuperação (<10 minutos), ser acessível e barato, prático de usar, ser solúvel em água e não deixar resíduos em peixes, humanos ou meio ambiente (BRANDÃO *et al.*, 2021; De M.SOUZA *et al.*, 2019; S.SANTOS *et al.*, 2016; VIDAL *et al.*, 2008). Assim na escolha de um anestésico deve-se considerar aspectos biológicos, como a idade, sexo, peso corporal, estágio de desenvolvimento e crescimento, estado fisiológico e imunológico, saúde e condição reprodutiva, e aspectos abióticos relacionados aos parâmetros físicos e químicos da qualidade da água, como a temperatura e nível de oxigênio dissolvido, que podem afectar a eficácia da anestesia (ROSS e ROSS, 2008; SNEDDON, 2012).

3.6. Uso de óleos essenciais (OEs) na aquacultura

3.6.1. Definição e propriedades gerais dos OEs

Os OEs são compostos bioativos, líquidos, odoríferos, incolores ou amarelados (ALMEIDA *et al.*, 2020), solúveis em álcool, obtidos de diversas partes de planta por destilação a vapor ou prensagem a frio do material vegetal ou dos pericarpos de frutos cítricos (VENTURA *et al.*, 2020; VITTI e BRITO, 2003). Os OEs são formados por uma mistura de ésteres, aldeídos, cetonas e terpenos, em que a proporção e diversidade variam conforme a espécie e parte da planta, factores agronómicos da planta (características do solo de cultivo, disponibilidade de água e intensidade da luz durante o cultivo) até aos factores relacionados ao processo de obtenção (método de extração) (ASSANE *et al.*, 2021). Estes componentes são responsáveis pelas actividades biológicas dos OEs.

Diversas propriedades bioativas dos OEs de plantas, têm sido recentemente evidenciadas por pesquisas. Dentre elas, a actividade antimicrobiana (ASSANE *et al.*, 2021), anti-inflamatória (MENG *et al.*, 2022), antifúngica, antioxidante (HOU *et al.*, 2022), antiparasitária (Da COSTA *et al.*, 2017), imunomoduladora (VALLADÃO *et al.*, 2019), promotora de crescimento (DAWOOD *et al.*, 2022) e anestésica (AYDIN e BARBAS, 2020; DAWOOD *et al.*, 2021; GABRIEL *et al.*, 2022; MAZANDARANI e HOSEINI, 2017; De M.SOUZA *et al.*, 2019) são mais estudadas para melhorar o bem-estar e aumentar a resistência de peixes a doenças infecciosas e parasitárias.

Muitas substâncias activas presentes nos OEs, como o eugenol, mentol, mirceno, 1,8-cineol, linalol, limoneno, citronelal, timol, carvacrol, espatulenol, γ -terpineno, acetato de 4-alilfenil, globulol e 1-terpinen-4-ol, são consideradas eficazes para a sedação e anestesia de peixes e já foram testados em várias espécies de peixes em diferentes condições (AYDIN e BARBAS, 2020).

A espécie vegetal, *Mentha piperita* ou Hortelã-pimenta pertence a família Lamiaceae e o OE desta planta, é um dos mais importantes mundialmente, pela sua ampla utilização na medicina tradicional, na indústria cosmética e farmacêutica, no processamento e conservação de alimentos e bebidas, assim como na perfumaria. Na aquacultura o OEMP apresentou efeitos antiparasitários quando usado em banhos terapêuticos, imune estimulantes, promotores de crescimento como aditivos na dieta (L.SANTOS, 2022), anti-inflamatórias (De A.SOUZA *et al.*, 2012), anestésicas, antiespasmódicos, anti-úlceras e antivirais (SIMÕES e GOMES, 2009).

O OE de eucalipto é extraído das folhas de eucalipto, e tem como o principal composto activo o 1,8-cineol (cerca de 80%), com propriedades, farmacêuticas, anticépticas, antimicrobiana, incluindo propriedade anestésica (VITTI e BRITO, 2003), o género *Eucalyptus* pertence a família Myrtaceae e seus efeitos anestésicos já foram testados em peixes como o robalo, truta e corvina (Da SILVA *et al.*, 2021; YIGIT *et al.*, 2022) e segundo Hoseini *et al.* (2019) a sua eficiência anestésica está associada ao composto maioritário, o cineol que modifica a actividade dos canais iónicos do receptor das células nervosas, diminuindo a sensibilidade, esta pode ser a base molecular da sua acção anestésica e analgésica.

Melaleuca alternifolia, também conhecida como árvore do chá, pertence a família Myrtaceae, este OE é muito utilizado pela medicina tradicional devido as suas propriedades antifúngicas, antibacteriana, antiparasitária, antisséptica, antiviral e anti-inflamatórias, para além de apresentar potencial antioxidante e anestésico (De F.SOUZA *et al.*, 2018), os seus principais componentes químicos são o terpinen-4-ol, γ -terpineno e α -terpineno, este OE é usado na piscicultura como anestésico para peixes como carpa comum e dourados (HOSEINI *et al.*, 2019; De F.SOUZA *et al.*, 2018) e também como sedativo para o transporte de peixes (REZENDE *et al.*, 2017), para além do seu uso como medicamento cicatrizante para peixes (CORREIA, 2015; De OLIVEIRA, 2023).

A planta *Ocimum basilicum* ou manjeriço, pertence a família Lamiaceae, conhecido como manjeriço, possui efeito analgésico em humanos e também apresenta potencial para uso

como anestésico em peixes, possui propriedades depressoras do sistema nervoso central (CORREIA, 2015) e os principais componentes deste OE são o estragol e o linalol (YIGIT *et al.*, 2022).

Thymus vulgaris, vulgarmente conhecido por tomilho, pertence a família Lamiaceae, tem em sua composição química o timol (20 a 55%) (AZAD *et al.*, 2014; HOSEINE *et al.*, 2019) como o principal constituinte, o OETV tem propriedades antissépticas, antibacterianas e antifúngicas. Na medicina local é usado para o tratamento da febre, como curativo para feridas e tratamento da indigestão, na indústria alimentar é usado para prolongar a validade dos produtos alimentares processados (AZAD *et al.*, 2014). Na piscicultura já foi testado como anestésico para peixes, para além das suas propriedades anestésicas também melhora o desempenho de crescimento quando usado como aditivo na ração, aumenta actividade antioxidante e melhora o estado imunológico dos peixes (YOUSEFI *et al.*, 2018).

3.6.2. Histórico do uso de óleos essenciais em medicina veterinária e aquacultura

O uso descontrolado de medicamentos tem representado uma das maiores ameaças ao meio ambiente e para a saúde pública, devido a sua resistência antimicrobiana (ASSANE *et al.*, 2021; CAVALCANTE *et al.*, 2021).

O desenvolvimento de diferentes terapias, métodos e estratégias para o controle, prevenção e tratamento de doenças bacterianas em peixes cultivados, que sejam amigas do ambiente e eficazes são consideradas soluções mais econômicas e sustentáveis ao longo prazo. O uso dos OEs de plantas para o controle, prevenção e tratamento de doenças, é uma medida alternativa amiga do ambiente em relação ao uso de antimicrobianos comerciais, por serem considerados seguros, menos tóxicos e com potenciais benefícios associados a melhoria do estado imunológico, bem-estar, saúde e índices de desempenho zootécnico dos animais na piscicultura (ASSANE *et al.*, 2021; CAVALCANTE *et al.*, 2021).

Os óleos essenciais de plantas pelas suas inúmeras propriedades bioactivas e a capacidade para tratar doenças têm sido muito utilizados na medicina veterinária e humana, como agentes de prevenção, controle e tratamento eficientes contra patógenos na piscicultura (ASSANE *et al.*, 2021), apresentando potencial antiviral, antibacteriano, antifúngico, antiparasitário e anestésico (AYDIN e BARBAS, 2020), na veterinária é usado para o tratamento de dermatopatias de origem zoonótica (CAVALCANTE *et al.*, 2021) e ectoparasitas (*Rhipicephalus microplus*) (De AVELAR *et al.*, 2016).

Segundo Cavalcante, *et al.* (2021), as dermatozoonoses apresentaram resistência aos antifúngicos e antibióticos comerciais, mas com a utilização dos óleos essenciais diminuiu essa resistência e proporcionou melhoria na saúde dos animais tratados, demonstrando que os OEs de *Melaleuca alternifolia*, *Cedrus deodara*, *Azadirachta indica*, *Myrtus communis*, *Thymus vulgaris*, *Rosmarinus officinalis*, *Lavanda angustifolia*, *Cinnamomum cassia*, *Eugenia uniflora* e *Plectranthus amboinicus*, têm efeito acaricida e fungicida.

Os óleos essenciais de diferentes plantas, pertencentes às famílias Lamiaceae, Verbenaceae, Lauraceae e Myrtaceae, têm sido estudados para anestesia em peixes, para além disso os componentes bioativos como o mentol, eugenol, linalol, mircenol, cineol, globulol, espatulenol, geraniol, óxido cariofileno, terpinen-4-ol, desidrofuquinona (HOSEINI *et al.*, 2019), limoneno, citronelal, timol, carvacrol, α -terpineno, β -terpineno, 4-alilfenilacetato e estragol (AYDIN e BARBAS, 2020; GABRIEL *et al.*, 2022) já foram testados como antimicrobianos (ASSANE *et al.*, 2021), promotores de crescimento (DAWOOD *et al.*, 2022), imunomoduladores (SHORBELA *et al.*, 2021) e anestésicos para peixes na aquicultura e os seus efeitos farmacológicos podem ser resultado directo de um único composto principal, interacção entre substâncias activas ou pela acção conjunta dos fitos constituintes. (AYDIN e BARBAS, 2020; De M.SOUZA *et al.*, 2019; VENTURA *et al.*, 2019b).

3.6.3. Vantagens e desvantagens dos óleos essenciais comparados aos anestésicos sintéticos

O uso de óleos essenciais de plantas pelas suas diversas propriedades, tem despertado interesse por apresentar vantagens como pesticidas, conservantes para files de peixes (POSTAY, 2019), sedativos e anestésicos na aquicultura (AYDIN e BARBAS, 2020), diminuição do impacto ambiental, redução de resíduos em produtos de origem animal, não requer um período de carência em comparação aos anestésicos sintéticos (M.PARK *et al.*, 2008), são menos tóxicos em relação aos anestésicos sintéticos, minimizam os efeitos do estresse, para além de serem menos caros a produção, são também biodegradáveis (VENTURA *et al.*, 2019b; De M.SOUZA, *et al.*, 2019), menor risco de resistência antimicrobiana em relação aos medicamentos convencionais, ajudam a prevenir surtos de doenças minimizando perdas económicas, ajudam a combater o uso descontrolado de antimicrobianos garantindo assim a qualidade dos produtos de cultivo (ASSANE *et al.*, 2021).

A sedação dos peixes com óleos essenciais de plantas, para o transporte, tem se mostrado eficaz com vantagens de minimizar os factores que induzem ao estresse, prevenir a redução do crescimento e implicações do sistema imunológico dos animais, além de reduzir as perdas pela mortalidade no transporte (VENTURA *et al.*, 2020).

As desvantagens associadas a ampla utilização dos OEs na aquicultura, está relacionado a variabilidade da sua composição química, pois o mesmo OE de uma determinada espécie de planta, pode variar no tipo e proporção das suas substâncias activas, estas variações são afetadas pela idade e parte da planta utilizada, período vegetativo, fertilidade do solo, intensidade da luz, disponibilidade de água, época de colheita e método de extração do OE (AYDIN e BARBAS, 2020; ASSANE *et al.*, 2021). No entanto o uso de OEs de plantas deve ser cauteloso, pois alguns podem apresentar efeitos tóxicos ou indesejados e causar danos a fisiologia dos peixes (VENTURA *et al.*, 2019a; De M.SOUZA *et al.*, 2019).

3.6.4. Composição química dos óleos essenciais

3.6.4.1. Técnicas de análise da composição química

Os óleos essenciais de plantas podem ser extraídos por diferentes formas, como o método de hidro destilação, maceração ou prensagem a frio, extração por solvente, enfleuragem e gases supercríticos, mas o método de maior aplicação é o de hidro destilação com a técnica de arraste a vapor, por ser econômico e simples em relação aos outros métodos (SANTOS *et al.*, 2004; STEFFENS, 2010; SILVEIRA *et al.*, 2012).

A caracterização e determinação da composição química dos OEs é geralmente realizada através da cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa (GC/MS), devido aos compostos voláteis presentes nos OEs, sendo portanto, este método o mais adequado, pois permite que a análise do OE seja exata, qualitativa e quantitativamente, eliminando a possibilidade de modificação da composição dos constituintes (STEFFENS, 2010).

3.6.5. Principais componentes químicos dos óleos essenciais

Os OEs são substâncias produzidas pelas plantas como resultado do seu metabolismo secundário e estes são acumulados em várias partes da planta, os constituintes químicos dos OEs na maioria são os fenilpropanoides ou terpenoides e podem apresentar de 20 a 60 compostos em mistura, sendo que um a três compostos como maioritários em termos percentuais (VENTURA *et al.*, 2019b). Para além destes podem encontrar-se os hidrocarbonetos, álcoois, aldeídos, ésteres, éteres, cetonas, óxidos, peróxidos, furanos, ácidos orgânicos, lactonas, cumarinas e fenóis em sua composição química (SACCOL, 2016; SILVEIRA *et al.*, 2012).

De acordo com a sua concentração no OE os constituintes são classificados em componentes principais (de 20 a 95%), secundários (1 a 20%) e componentes traço (abaixo de 1%) e os terpenoides dependendo da sua estrutura química são chamados de mono, sesqui, di, sester e tri, para os fenilpropanoides os principais são o eugenol, metil eugenol, miristicina, elemicina, chavicol, metil chavicol, dilapiol, anetol, estragol e apiol (STEFFENS, 2010).

3.6.6. Variabilidade química entre diferentes óleos essenciais

Os factores genéticos e outros factores relacionados com a interação entre planta/microrganismos, planta/insectos, planta/planta, determinam a composição química dos OEs (MORAIS, 2009), a idade da planta, período vegetativo, local de colheita, intensidade da luz, disponibilidade de água, fertilidade do solo, temperatura e época de colheita (AYDIN e BARBAS, 2020) podem alterar a produção dos metabolitos secundários, consequentemente ocorrer a variabilidade química das substâncias activas, entre as espécies e até mesmo entre OEs de plantas pertencentes a mesma espécie (AYDIN e BARBAS, 2020; MORAIS, 2009).

A alteração dos componentes principais dos OEs, seja por factores genéticos, técnicos, bióticos e abióticos, pode influenciar directamente nos resultados da sua aplicação, sendo que um OE da mesma espécie vegetal pode gerar diferenças nas respostas, pela variabilidade química dos seus constituintes (MORAIS, 2009).

3.6.7. Efeito anestésico dos óleos essenciais

3.6.7.1. Mecanismo de acção dos óleos essenciais como anestésico

Segundo Ross e Ross (2008) os anestésicos causam a depressão do sistema nervoso central, produzida pela acção de células nervosas com a libertação de transmissores e a inibição de receptores, modificando a actividade dos canais iónicos ou ainda pela excitabilidade da membrana das células nervosas.

O mecanismo anestésico dos OEs e seus derivados, induzem a anestesia devido a sua natureza lipofílica, permitindo que os OEs penetrem com facilidade através das membranas celulares, e afectar a estrutura de diferentes camadas de polissacarídeos, ácidos graxos e fosfolipídios, causando a penetração da célula (VENTURA *et al.*, 2019b; De M.SOUZA *et al.*, 2019), influenciar as funções das células nervosas do sistema nervoso central ao interagir como o receptor do ácido gama-aminobutirico (GABA), onde este é um inibidor neurotransmissor, alterando assim o comportamento normal de natação e consciência dos peixes (GABRIEL *et al.*, 2022).

A depressão do sistema nervoso central vem sendo relacionada a acção dos compostos terpenoides presentes nos OEs, devido as suas características lipofílicas, dentre estas actividades neurológicas se destacam a analgesia, sedação e anestesia, alguns destes compostos presentes nos OEs são capazes de modular o receptor do ácido gama-aminobutírico (GABA) e este é o principal neurotransmissor inibidor do sistema nervoso central e actua nos receptores GABA_A, GABA_B e GABA_C (RODRIGUES, 2020).

As mudanças no tipo e proporção de substâncias activas presentes nos óleos essenciais são responsáveis pelas diferenças significativas nos efeitos sedativos e anestésicos, além disso, a eficiência anestésica e as concentrações usadas, variam de acordo com as espécies de peixes, aspectos biológicos como a idade, tamanho e sexo do peixe, factores ambientais como a temperatura da água, P^H, salinidade, dureza, alcalinidade, condutividade e nível de oxigénio dissolvido na água, bem como o tempo de exposição ao anestésico (AYDIN e BARBAS, 2020).

Os efeitos medicinais dos OEs de plantas como sedativos e anestésicos para peixes, podem ser resultado direto de um único composto principal, interação entre diferentes substancias activas presentes no OE ou pela acção sinérgica de todos os fito constituintes (AYDIN e BARBAS, 2020).

3.6.7.2. Estudos prévios sobre o uso de óleos essenciais como anestésico para peixes

O óleo essencial de cravo tem sido muito estudado e usado na aquacultura como sedativo e anestésico, por ser considerado seguro, eficaz, barato, não tóxico ao meio ambiente e ao manipulador (AYDIN e BARBAS, 2020) e não requiere um período de carência em comparação aos outros anestésicos sintéticos, este OE foi amplamente testado como anestésico para diferentes espécies de peixes, camarão, lagosta e em polvos, tem como seu constituinte principal o eugenol (70 a 80%) (M.PARK *et al.*, 2008).

Muitos estudos sobre o potencial sedativo e anestésico dos óleos essencial de diferentes espécies de plantas, em diferentes espécies de peixes e em diferentes concentrações foram realizados (AYDIN e BARBAS, 2020). E Correia (2015) testou o potencial anestésico dos OEs de cravo, Melaleuca e Manjerição sobre *Amphiprion clarkii*, Limma-Netto *et al.* (2016) testou a eficiência anestésica dos OEs *Ocimum basilicum* e *Cymbopogon flexuosus* em Tambacu (*Piaractus mesopotamicus* macho X *Colossoma macropomum* femêa) e S.Santos *et al.* (2016) anestesiou com OE de cravo juvenis de *Mollinesia* sp.

Segundo Ostrensky *et al.* (2016) os OEs de cravo, hortelã-pimenta e canfora apresentaram eficácia como sedativos no transporte de *Amphiprion ocellaris* durante 24 horas, Mazandarani e Hoseini (2017) anestesiaram em < 3 min *Acipenser persicus* (Esturção) com OE de cravo, Becker *et al.* (2018) testaram o potencial anestésico do OE *Lippia alba* e *Lippia origanoides*, Spanghero *et al.* (2019) usou o OEMP e Da Silva *et al.* (2021) o OEEG em bagre prateado (*Rhamdia quelen*) e Yousefi *et al.* (2018) anestesiou carpa comum (*Cyprinus carpio*) com eugenol e timol.

Para Boaventura *et al.* (2020) o OE de *Ocimum gratissimum* teve efeito anestésico em *Lophiosilurus alexandri*, Brandão *et al.* (2021) testaram a actividade anestésica dos OEs de *Aloysia tripylla*, *Lippia sidoides* e *Mentha piperita* e Ferreira *et al.* (2024) usou o OE de *Ocimum gratissimum* em *Colossoma macropomum*, Yigit *et al.* (2022) anestesiou com OEOB e OEEG trutas arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) e De Oliveira (2023) testou o efeito anestésico do OEMA em *Pangasius hypophthalmus*.

3.6.7.3. Respostas fisiológicas, bioquímicas e comportamentais a anestesia com OEs

Quando os peixes são submetidos a um procedimento anestésico desencadeiam uma série de respostas fisiológicas, bioquímicas e comportamentais. Apesar dos anestésicos trazerem efeitos positivos na redução do estresse e facilitar no manejo, estes podem afectar a saúde e bem-estar dos animais, causando alterações nos parâmetros bioquímicos, estado antioxidante, redução da frequência respiratória e ventilatória, assim como alteração do apetite dos animais (AYDIN e BARBAS, 2020; VENTURA *et al.*, 2020).

As respostas fisiológicas, bioquímicas e comportamentais a anestesia, podem ser influenciadas por parâmetros de qualidade da água de imersão, como a temperatura e o oxigênio dissolvido, a dose do anestésico usada e o tempo de exposição (VENTURA *et al.*, 2020).

A temperatura da água de imersão desempenha uma função importante no processo da anestesia pois está relacionada com a absorção e eliminação de substâncias anestésicas, e a variação da temperatura desencadeia respostas fisiológicas nos peixes que podem levar ao aumento do metabolismo provocando o aumento do fluxo do sangue nas brânquias e elevação dos parâmetros hematológicos do sangue (VENTURA *et al.*, 2020).

Durante o procedimento anestésico (onde ocorre maior necessidade de oxigênio), os peixes sub condições de insuficiência de oxigênio ou por exposição prolongada do anestésico,

tendem a apresentar elevação nos parâmetros hematológicos do sangue, como o aumento da concentração de hemoglobina (VENTURA *et al.*, 2020; YOUSEFI *et al.*, 2018).

O estresse anestésico causa desequilíbrio hidromineral, perda ou aumento dos níveis iônicos (Cl⁻ e Ca²⁺), afectando a fisiologia circulatória e a capacidade osmorregulatória dos peixes (MAZANDARANI *et al.*, 2017; ROSS e ROSS, 2008), assim como também afecta o sistema imunológico, criando um aumento dos leucócitos e eritrócitos no sangue (VENTURA *et al.*, 2019a).

A anestesia com OE de plantas, demonstrou ser eficaz na redução do estresse, assim como benefícios associados a desinfecção e aumento da imunidade (AZAD *et al.*, 2014). No entanto alguns estudos demonstraram que os OE, assim como os anestésicos sintéticos, podem induzir alterações fisiológicas, bioquímicas e comportamentais a anestesia. A anestesia com OE de *Ocimum gratissimum* induziu alteração no sistema antioxidante dos peixes da espécie *Lophiosilurus alexandri*, aumentando a concentração da espécie reactiva de oxigênio (ERO) no fígado e no cérebro, comprometendo a imunidade dos animais, mas evitou o aumento dos níveis de glicose plasmática e cortisol, após anestesia (BOAVENTURA *et al.*, 2020).

Segundo Spanghero *et al.* (2019), a exposição prolongada dos peixes ao anestésico OEMP causou lesões no tecido das guelras na espécie *Rhamdia quelen* e alterações foram observadas no comportamento dos peixes após anestesia como alteração na cor e no padrão da pele indicando interferências na capacidade de percepção do ambiente (REZENDE *et al.*, 2017).

Os peixes anestesiados com OE de *Lippia origanoides* mantiveram a frequência ventilatoria constante e o OE de *Lippia alba* preveniu o aumento do cortisol plasmático durante o transporte dos peixes (BECKER *et al.*, 2018). Juvenis de *Colossoma macropomum* foram anestesiados com OE de *Ocimum gratissimum*, e apresentaram frequência ventilatoria estável e sem alteração do sistema de defesa antioxidante (FERREIRA *et al.*, 2024).

3.6.7.4. Comparação do efeito anestésico de diferentes óleos essenciais em tilápia

Diferentes óleos essenciais de plantas, em diferentes concentrações e com diferentes tempos de exposição foram testados como sedativos e anestésicos para tilápias, Vidal *et al.* (2008) testou a eficácia anestésica do OE de cravo e indicou a concentração de 75 mg/L como sendo ideal para rápida indução e 184,26 mg/L foi considerada a concentração letal em 10 minutos de exposição, Simões *et al.* (2012) avaliou o efeito anestésico do mesmo OE e a concentração de 250 mg/L levou os peixes a anestesia cirúrgica e 150 mg/L foi indicada ideal

para biometria e Oliveira (2009) também testou o mesmo OE e o composto mentol indicando que as concentrações de 100 e 200 mg/L de mentol e 150 mg/L de OE de cravo como sendo adequadas para anestesia cirúrgica em <5 min para *O. niloticus*.

E Simões e Gomes (2009) avaliaram o efeito anestésico também com o mentol e a concentração de 250 mg/L foi indicada adequada para anestesia cirúrgica e 150-200 mg/L ideal para biometria, Hohlenwerger *et al.* (2017) avaliaram a eficácia do OE de *Lippia alba* como sedativo no transporte de *Oreochromis niloticus* indicando que a concentração de 20 µl/L como sendo a ideal e Rezende *et al.* (2017) testou o efeito anestésico dos OEs de Melaleuca, Cravo, Eucalipto e Menta em concentrações de 7,4 ml/L para todos os OEs, mas os estágios de anestesia atingidos, os tempos de indução e recuperação foram diferentes.

Segundo Limma-Netto *et al.* (2017) os OEOb e OE de *Cymbopogum flexuosus* (OEcf) as concentrações ideais para anestesia foram 10 a 25 µl/L para OEOb e 400 a 600 µl/L para OEcf, Caldeira *et al.* (2022) testou o efeito anestésico de eugenol 100 mg/L associado ao cloridrato de cetamina 66mg/Kg, induzindo a anestesia cirúrgica em 50 min para tilápia do Nilo e Gabriel *et al.* (2022) anestesiou rapidamente *Oreochromis mossambicus* em <5 min e recuperação em <10 min com o OE de *Origanum vulgare* na concentrações de 50 e 100 µl/L como sendo as ideais.

3.6.7.5. Potenciais efeitos colaterais e segurança dos óleos essenciais

A sedação e anestesia de peixes com OEs tem sido utilizada com sucesso em muitos estudos, no entanto, deve-se ter o cuidado no uso de alguns OEs, devido aos efeitos adversos causados nos peixes como comportamento de saltos devido a contrações musculares involuntárias, paralisia e mortalidade no transporte, longos períodos de recuperação, diminuição de células sanguíneas responsáveis pela imunidade, insuficiência respiratória, aumento do muco nas branquiais, distúrbio osmótico e morte, afectando vários aspectos fisiológicos, parâmetros bioquímicos e bem-estar dos peixes (AYDIN e BARBAS, 2020).

Os OEs usados como anestésicos naturais foram considerados potencialmente mais ecológicos (AYDIN e BARBAS, 2020), como antimicrobianos amigos do ambiente com potenciais para a prevenção e tratamento de doenças causadas por bactérias, reduzindo o risco de resistência antimicrobiana (ASSANE *et al.*, 2021), como alternativas ambientalmente sustentáveis no tratamento de parasitas e fungos (CAVALCANTE *et al.*, 2021) e são biodegradáveis (VENTURA *et al.*, 2019b; De M.SOUZA *et al.*, 2019).

3.6.8. Considerações para aplicação prática em aquacultura

A anestesia com base em OEs de plantas deve ser examinada de forma cuidadosa, devido aos seus efeitos sobre a fisiologia e bioquímica de diferentes espécies de peixes de importância comercial para aquacultura, para que limites seguros e a massificação do uso possam ser estabelecidos e assim traduzir-se em benefícios para o sector da aquacultura (AYDIN e BARBAS, 2020).

No entanto, os mecanismos de acção da maioria dos OEs estudados como anestésicos para peixes ainda não estão totalmente esclarecidos, bem como, a existência de possíveis efeitos colaterais e a falta de padronização metodológica, pois muitos dos OEs são testados em condições experimentais específicas e em um número restrito de espécies de peixes, estas são algumas das limitações actuais para a recomendação ampla do uso de OEs na aquacultura para anestesia em peixes (AYDIN e BARBAS, 2020).

As substâncias activas dos OEs devem ser estudadas e identificadas para compreender e prever o resultado da anestesia resultante da interação entre tipo/proporção do constituinte e os factores ambientais/biológicos envolvidos. Sob o ponto de vista fisiológico e bem-estar, é importante que as substâncias que podem causar efeitos colaterais adversos nos peixes sejam identificadas no conteúdo dos OEs (AYDIN e BARBAS, 2020).

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Análise química dos óleos essenciais

Seis óleos essenciais (OE) derivados de plantas (*Eucalyptus globulus* – OEEG, *E. citriodora* – OEEC, *Thymus vulgaris* – OETV, *Mentha piperita* – OEMP, *Melaleuca alternifolia* – OEMA e *Ocimum basilicum* – OEOb), escolhidos pelas suas inúmeras potencialidades terapêuticas, estes foram adquiridos da Phytoterapica[®], Brasil. A composição química dos óleos foi determinada via cromatografia gasosa de alta resolução e confirmada via espectrometria de massa com detector de ionização de chama em um sistema Agilent System HP 7820A. As análises foram realizadas no Laboratório de Cromatografia, do Departamento de Química, da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG, Brasil), usando o método descrito por (ASSANE *et al.*, 2021).

4.2. Delineamento experimental

Juvenis (n = 420) de tilapia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) (5±2 g, 63 ± 1,58 mm) saudáveis foram obtidos da piscicultura Chicoa Fish Farm (Cahora Bassa, Tete – Moçambique). Estes foram distribuídos de forma aleatória por 21 caixas plásticas numeradas, com capacidade de

80 litros (20 peixes por caixa), em um sistema fechado com aeração constante e renovação parcial de água; localizado no Laboratório do Instituto Oceanográfico de Moçambique (InOM) (Tete, Moçambique). Os peixes foram aclimatados por 7 dias (Anexo A, figura 2).

Os parâmetros de qualidade da água (temperatura, pH e oxigénio dissolvido) foram monitorados diariamente, usando uma sonda multiparametro Hanna HI9829. Durante todo o período de aclimação e experimental os peixes foram alimentados *ad libitum*, 3 vezes por dia, com alimento apropriado para a espécie e fase de desenvolvimento (Aquafeed, Starter 3 com 40% de proteína).

Depois do período de aclimação, foi feito um sorteio para dividir as caixas em sete grupos experimentais, cada com 3 repetições; sendo: T0 – 100 mg/L lidocaína (controle positivo); T1 – 100 mg/L OEEG, T2 – 100 mg/L OEEC, T3 – 100 mg/L OETV, T4 – 100 mg/L OEMP, T5 – 100 mg/L OEMA e T6 – 100 mg/L OEOB. As concentrações dos OEs foram com base na dose padrão usada para o anestésico sintético.

4.2.1. Preparação das soluções anestésicas

Para preparação de cada solução de teste (50 ml), 0,5 g de OE foi dissolvido em álcool etílico a 96%. Esta solução de 50 ml foi usada para anestésiar os peixes (T1 a T6) em um recipiente com 4.950 ml de água com as mesmas condições de qualidade da água de manutenção dos peixes. Para o grupo controle (T0), 25 ml de solução comercial de lidocaína a 2% foi colocada diretamente no recipiente de anestesia contendo 4.975 mL de água. Todos os recipientes foram homogeneizados antes de colocar 15 peixes de cada caixa, previamente mantidos em jejum por 24 horas (Anexo A, figura 2).

4.2.2. Avaliação do efeito anestésico

O efeito anestésico dos OEs foi avaliado pelo tempo necessário que os peixes levaram para atingir o estágio comportamental da anestesia profunda. O procedimento anestésico consistiu em banho de imersão seguido de observação de sinais comportamentais de anestesia e registo do tempo para atingir o estágio de anestesia profunda. O tempo máximo de exposição ao anestésico foi de 30 minutos, os peixes que não atingiram o estágio comportamental da anestesia profunda no período de 30 min (período máximo de observação), foram transferidos para o recipiente de recuperação e o efeito anestésico foi avaliado pelo tempo de indução a anestesia e recuperação em minutos, após exposição a 100 mg/L de OE ou lidocaína.

O tempo de indução anestésica e recuperação foi medido em minutos usando um cronómetro, sendo que o tempo de anestesia foi determinado a partir do momento em que os peixes foram colocados em água contendo o anestésico até ao momento do estágio de anestesia profunda.

Após a indução da anestesia, os peixes foram retirados das soluções anestésicas e colocados em recipiente com água limpa e fresca para recuperação. O tempo necessário para a recuperação completa em cada caixa foi registrado. Este tempo foi determinado a partir do momento em que os animais foram colocados na água limpa para recuperação até ao momento do estágio no qual a natação e a resposta aos estímulos visuais retomam. Foi registrada a morte daqueles peixes que não apresentaram sinais de recuperação (retoma dos movimentos operculares). Após a recuperação os peixes foram transferidos para as devidas caixas de origem e monitorados por período de 48 horas para a observância da mortalidade.

Durante a aclimação e o experimento, o desconforto ou estresse aos peixes foi minimizado através da aplicação de medidas de manejo adequadas para a espécie e a fase de desenvolvimento.

4.3. Análise de Dados e comparação do efeito anestésico dos diferentes OEs

O tempo de anestesia e recuperação dos peixes de cada tratamento foi registrado em minutos. A normalidade e homoscedasticidade dos dados foi avaliada pelos testes de Kolmogorov-Smirnov e Levene, respectivamente. Dados não normais foram normalizados *via* transformação em raiz quadrada. Na sequência, foi feita análise de variância de um factor (ANOVA), seguida de teste *post hoc* de comparações múltiplas usando o método de Holm-Sidak, com nível de significância de 0,05.

5. RESULTADOS

5.1. Composição química dos óleos essenciais

O resultado das análises da composição química dos óleos essenciais (OEs) de *Eucalyptus globulus* (OEEG), *Eucalyptus citriodora* (OEEC), *Thymus vulgaris* (OETV), *Mentha piperita* (OEMP), *Melaleuca alternifolia* (OEMA) e *Ocimum basilicum* (OEOB) estão apresentados na tabela 4, demonstrando que alguns óleos têm na sua composição química constituintes em comum, mas em proporções diferentes. Um total de quarenta e cinco compostos pertencentes aos grupos dos monoterpenos oxigenados, monoterpenos hidrocarbonados, sesquiterpenos hidrocarbonados e sesquiterpenos oxigenados foram identificados. O 1,8 cineol, citronelal, ρ -cimeno, timol, mentol, 1-terpinen-4-ol e estragol, foram os componentes maioritários dos OEEG, OEEC, OETV, OEMP, OEMA e OEOB, respectivamente. Os componentes principais identificados nos OEs são um indicador do potencial sedativo e anestésico destes óleos.

Os OEMP, OEOB e OETV apresentaram em comum o linalol na sua composição química em diferentes proporções 6.9, 16.9 e 6.7 % respectivamente. Os OEEG e OEMP apresentaram

em comum o Limoneno na proporção de 12.1 e 3.2 % respectivamente, os OEEG e OETV tiveram em comum o ρ -Cymeno na proporção de 4.4 e 34% respectivamente.

Tabela 4. Composição química dos óleos essenciais de *Eucalyptus globulus* (OEEG), *Eucalyptus citriodora* (OEEC), *Thymus vulgaris* (OETV), *Mentha piperita* (OEMP), *Melaleuca alternifolia* (OEMA) e *Ocimum basilicum* (OEOB).

Grupo Químico		Componente	%					
			OEEG	OEMP	OEOB	OETV	OEMA	OEEC
Monoterpenos oxigenados	Oxido	1,8 Cineol	73	-	0,3	1	2,9	0,7
	Álcool	Carvacrol	-	-	-	6,6	-	-
		Carveol	-	-	0,5	-	-	-
		Cis-hidrato sabineno	-	-	0,2	-	-	-
		Isoborneol	-	-	-	-	-	1,3
		Citronelol	-	-	-	-	-	7,7
	Ester	Acetato citronelila	-	-	-	-	-	7,0
	Aldeído	Citronelal	-	-	-	-	-	77,2
		Isopulegol	0,1	-	-	-	-	0,5
	Álcool	Levomentol	-	1,9	-	-	-	-
		Linalol	-	6,9	16,9	6,7	-	-
		Mentol	-	70	-	-	-	-
		Hidrato sabineno	-	1,2	-	-	-	-
		α -Terpineol	-	0,5	0,2	1,2	2,9	-
	Ester	L-acetato de mentil	-	-	1	-	-	-
		Anetol	-	-	-	0,7	-	-
		Estragol	-	-	77,4	-	-	-
	Cetona	Dihidrocarvona	-	-	-	0,9	-	-
		Pulegone	0,4	-	-	-	-	-
		Menthone	-	6,5	-	-	-	-
Isomenthone		-	3,8	-	-	-	-	
α -Thujeno		0,1	-	-	-	0,9	-	
Fenol	Timol	-	-	-	40,4	-	-	
Álcool	1-terpinen-4-ol	-	-	-	-	40,5	-	
Monoterpenos hidrocarbonados	Terpinoleno	-	0,2	-	-	3,4	-	
	γ -terpineno	0,7	-	-	-	19,7	-	
	α -terpineno	-	-	-	-	9,3	-	
	Limoneno	12,1	3,2	-	1,7	0,9	0,5	
	Mirceno	-	0,6	-	0,6	0,8	0,3	
	ρ -Cymeno	4,4	-	-	34	3,2	-	
	Sabineno	-	0,3	-	-	0,5	-	
	α -Felandreno	1,8	-	-	-	0,6	-	
	α -Pino	4,1	0,7	-	-	2,4	-	
	β -Mirceno	0,5	-	-	-	-	-	
β -Pino	1,9	0,8	-	-	0,7	-		
Sesquiterpenos	éter	Viridiflorino	-	-	-	2,1	-	
	Álcool	Nerolidol	-	1,6	-	-	-	

oxigenados								
Sesquiterpenos hidrocarbonados	Humuleno	-	-	-	-	0,8	-	
	α -Bergamotone	-	-	0,2	-	-	-	
	γ -Muuroleno	-	0,5	-	-	-	-	
	α -Muuroleno	-	-	0,1	-	-	-	
	Aromadendreno	-	-	-	-	1,6	-	
	δ -Cadineno	0,6	-	-	-	1,7	-	
	α -Gurjuneno	-	-	0,5	-	0,6	-	
β -Cariofileno	-	-	0,4	-	0,7	0,7		
Total de componentes identificados	45 Compostos	99,7	98,7	97,7	93,8	96,2	95,9	
Monoterpenos oxigenados		73,6	90,8	96,5	57,5	47,2	94,4	
Monoterpenos hidrocarbonados		25,5	5,8	0	36,3	41,5	0,8	
Sesquiterpenos oxigenados		0	1,6	0	0	2,1	0	
Sesquiterpenos hidrocarbonados		0,6	0,5	1,2	0	5,4	0,7	

5.2. Indução anestésica e recuperação

Durante a anestesia e recuperação, os parâmetros de qualidade de água estiveram dentro dos níveis recomendados para a espécie (temperatura = 27°C, pH = 7,2, oxigênio dissolvido = 7,1 mg/L e totais de sólidos em suspensão = 61,5 g/L).

Os tempos de anestesia variaram significativamente entre os diferentes anestésicos testados. A lidocaína (T0 – controle) e os óleos essenciais (EOs) de *Eucalyptus globulus* (T1) e *Melaleuca alternifolia* (T5) apresentaram tempos de anestesia muito semelhantes (~30 minutos) e significativamente maiores que os outros grupos, de referir que estes tratamentos não atingiram o estágio de anestesia profunda, levaram os peixes até ao estágio de sedação no tempo acima mencionado.

O tratamento com OE de *Thymus vulgaris* (T3) apresentou o menor tempo de anestesia (~4 minutos), seguido por *Ocimum basilicum* (T6) (~6 minutos). *Eucalyptus citriodora* (T2) e *Mentha piperita* (T4) tiveram tempos de anestesia intermediários (~9 e ~23 minutos, respectivamente) (Figura 1). Todavia, o tempo de recuperação foi muito similar entre os grupos, com exceção do T6 (*O. basilicum*) que apresentou um tempo de recuperação significativamente maior do que todos os outros anestésicos ($p \leq 0,003$), sugerindo que, embora *O. basilicum* tenha um efeito anestésico rápido, a recuperação é mais lenta (requerendo até $42,49 \pm 1,87$ minutos).

Durante a avaliação da anestesia no T6 foi verificado efeitos adversos, como constantes saltos repentinos, sugerindo que se tratava de espasmos musculares involuntários, seguida de mortalidade na recuperação e 24 horas após o término dos testes.

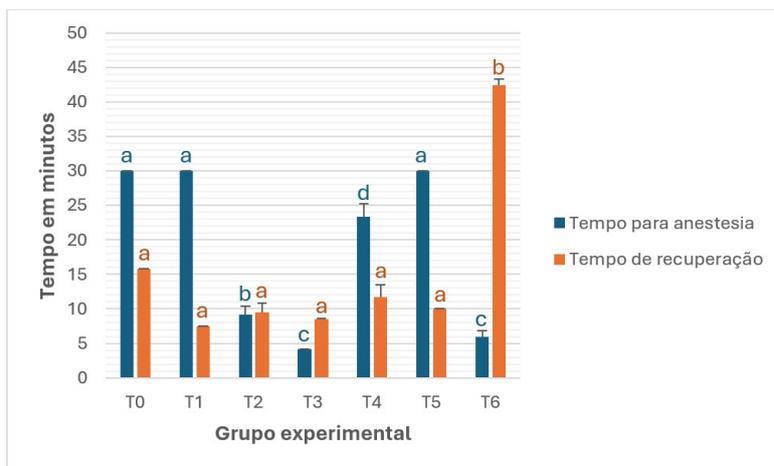


Figura 1. Tempo para anestesia e recuperação de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) anestesiadas com lidocaína (T0) e óleos essenciais de *Eucalyptus globulus* (T1), *E. citriodora* (T2), *Thymus vulgaris* (T3), *Mentha piperita* (T4), *Melaleuca alternifolia* (T5) e *Ocimum basilicum* (T6). Letras diferentes, da mesma cor, indicam diferença significativa entre os diferentes grupos experimentais.

5.3. Comparação do efeito anestésico dos diferentes OEs

Todos os óleos essenciais avaliados apresentaram potencial sedativo e anestésico para a espécie estudada, mas com efeitos anestésicos diferentes em termos de tempos de indução anestésica e recuperação.

Os efeitos anestésicos variaram significativamente entre os diferentes anestésicos testados. A lidocaína (T0 – controle) e os óleos essenciais (EOs) de *Eucalyptus globulus* (T1) e *Melaleuca alternifolia* (T5) apresentaram o mesmo efeito anestésico, levando os peixes ao estágio de sedação com tempos de indução anestésica muito semelhantes (~30 minutos) e significativamente maiores que os outros anestésicos.

Os óleos essenciais de *Thymus vulgaris* (T3), *Ocimum basilicum* (T6), *Eucalyptus citriodora* (T2) e *Mentha piperita* (T4) levaram os peixes ao estágio de anestesia profunda em tempos de indução diferentes (~4, 6, 9 e ~23 minutos, respectivamente) (Figura 1).

O OETV apresentou o melhor tempo de anestesia (~4 minutos), ausência de efeitos adversos e sem mortalidades na recuperação em relação a outros grupos, o segundo melhor efeito anestésico com base no tempo para anestésiar foi obtido pelo OE de *Ocimum basilicum* (T6) (~6 minutos), contudo, apesar de um bom efeito anestésico, este OE comparativamente aos demais anestésicos testados, apresentou efeitos colaterais como espasmos musculares

involuntário, tempo de recuperação bastante longo (requerendo até $42,49 \pm 1,87$ minutos) e excessiva mortalidade na recuperação e até 24 horas após o termino dos testes.

A recuperação dos peixes foi muito similar entre os grupos, com exceção do T6 (*O. basilicum*) que teve um tempo de recuperação maior do que todos os outros anestésicos ($p \leq 0,003$). Comparando o efeito anestésico de todos os OEs testados, o OETV foi o melhor anestésico em termos de tempo para rápida anestesia e uma rápida recuperação em relação aos demais OEs.

5.4. Mortalidade dos peixes

Todos os peixes submetidos ao procedimento anestésico que não se recuperaram ou não demonstraram sinais de recuperação com a retoma dos movimentos operculares, foram considerados como mortos e o monitoramento da mortalidade dos peixes foi observado em até 48 horas após a exposição ao anestésico, os resultados são apresentados na tabela 5.

Durante a recuperação e após 48 horas do procedimento anestésico, foram observadas mortalidades de peixes nos grupos com os OEs de *Eucalyptus citriodora* (T2) e *Ocimum basilicum* (T6), mas o tratamento com OEOB apresentou maior número de peixes mortos na recuperação e até 24 horas após os testes anestésicos, este tratamento também apresentou efeitos adversos nos peixes como comportamento de saltos repentinos, sugerindo espasmos musculares involuntários. No tratamento com OEMP foi observado muita agitação dos peixes, caracterizado por movimento natatório rápido, subindo sempre a superfície, que foi diminuindo a medida que o anestésico fazia efeito. Não foram observadas mortalidades nos outros grupos avaliados.

Tabela 5. Mortalidade de peixes durante e após o procedimento anestésico

Tratamento	Mortalidade na recuperação	Mortalidade após 24h da Anestesia	Mortalidade após 48h da Anestesia	Total mortalidade	Nº de peixes por tratamento	% Mortalidade
T0	0	0	0	0	45	0
T1	0	0	0	0	45	0
T2	0	0	1	1	45	2
T3	0	0	0	0	45	0
T4	0	0	0	0	45	0
T5	0	0	0	0	45	0
T6	19	1	0	20	45	44
Total	19	1	1	21	315	7

6. DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

6.1. Composição química dos óleos essenciais

A utilização dos OEs ou dos seus constituintes bioactivos isolados ou puros, segundo Hoseini *et al.* (2019) permite a padronização da anestesia em peixes, pois a composição dos OE é muito variável. O 1,8 cineol, citronelal, *p*-cimeno, timol, mentol, 1-terpinen-4-ol e estragol, foram os componentes maioritários dos OEEG, OEEC, OETV, OEMP, OEMA e OEOB, respectivamente, estes compostos principais identificados nos OEs são um indicador do potencial sedativo e anestésico destes óleos, sugerindo que óleos essenciais que contenham em sua composição química o 1,8 cineol, citronelal, *p*-cimeno, timol, mentol, 1-terpinen-4-ol e estragol em altas proporções podem ser usados para anestesia de peixes ou podem ser usados como fonte do componente para uso isolado .

O timol é um componente presente em altas quantidades em OEs com efeito anestésico, no presente estudo o timol foi o componente maioritário do OE de *Thymus vulgaris* (40,4%) e

este foi o que apresentou melhor efeito anestésico na espécie estudada. Estudos anteriores, em outras espécies de peixes (*Piaractus mesopotamicus*, *Cyprinus carpio*; *Rhamdia quelen* e *Colossoma macropomum*) também demonstraram que o OE de *Lippia sidoides* apresentava o timol como composto maioritário com bom efeito anestésico (BRANDÃO *et al.*, 2021; HOSEINI *et al.*, 2019; VENTURA *et al.*, 2019b; YOUSEFI *et al.*, 2018). Contudo, a presença do timol nos OEs pode ser usada como um indicador do potencial do OE como anestésico para peixes, e os OEs com altas concentrações deste componente podem ser usados como fontes do componente para uso isolado.

O carvacrol também é um dos constituintes do OETV e este foi relado por Aydın e Barbas, (2020), assim como por Bianchini *et al.* (2017) como sendo causador de contrações musculares involuntárias durante anestesia e levou os peixes a longos períodos de tempo de recuperação com observância da mortalidade em *Rhamdia quelen*, contudo, o OETV tem em sua composição química também o carvacrol na proporção de 6,6% mas os peixes expostos a este OE não apresentaram nenhum comportamento adverso nem mesmo a mortalidade relada por Aydın e Barbas (2020). A não observância destes efeitos colaterais provavelmente poderá estar associado a baixa proporção do carvacrol neste OE, sugerindo que alta proporção deste composto no OE poderá causar efeitos adversos.

Segundo Hoseini *et al.* (2019), o 1-terpinen-4-ol é o constituinte maioritário presente no OEMA, no presente estudo o 1-terpinen-4-ol também foi o constituinte maioritário (40,5%) deste OE. Estudos anteriores, em outras espécies de peixes (*Rhamdia quelen*, *Astyanax bimaculatus*, *Amphiprion clarkii*, *Cyprinus carpio* e *Pangasius hypophthalmus*) também demonstraram que o OEMA tem efeito anestésico e este efeito foi atribuído ao seu constituinte maioritário, o 1-terpinen-4-ol (HAJEK, 2011; Da SILVA *et al.*, 2020; De OLIVEIRA, 2023; De F.SOUZA *et al.*, 2018). Portanto, os OEs que tem como principal constituinte o 1-terpinen-4-ol, podem ser considerados anestésicos eficazes para peixes.

O linalol e o estragol são os componentes principais do OE de *Ocimum basilicum* (YIGIT *et al.*, 2022), no presente estudo o estragol foi o componente principal (77,4%) seguido por linalol (16,9%). Este OE apesar de apresentar efeito anestésico na espécie estudada, foi também observado efeitos adversos como excessivos espasmos musculares e mortalidades. Os efeitos adversos observados nos peixes anestesiados com este OE, não poderão ser atribuídos ao composto carvacrol como relatado por Aydın e Barbas (2020) e por Bianchini *et al.* (2017), pois este OE não apresentou este componente em sua composição química, sugerindo que os efeitos adversos observados possam estar provavelmente relacionados a

acção conjunta dos compostos na mistura ou ainda pela acção de um componente presente no OE que ainda não foi relatado os seus efeitos adversos.

Em estudos anteriores, em outras espécies de peixes (*Piaractus mesopotamicus* X *Colossoma macropomum*, *Oncorhynchus mykiss* e *Amphiprion clarkii*) também demonstraram que OEOP apresentava o estragol e o linalol como compostos maioritários com bons efeitos anestésicos (LIMMAE-NETTO *et al.*, 2016; VENTURA *et al.*, 2020; YIGIT *et al.*, 2022). Portanto, os OEs com alto teor de estragol e linalol, pode indicar o potencial do OE como anestésico.

O 1,8-cineol é um componente presente em altas quantidades nos OEs com efeito anestésico, no presente estudo o 1,8-cineol foi o componente maioritário do OE de *Eucalyptus globulos* (73%). Portanto, a presença do 1,8-cineol em altas quantidades nos OEs pode indicar o potencial anestésico deste OE, podendo assim o OEEG ser indicado como anestésico para peixes. Estudos anteriores, com outras espécies de peixes (*Oncorhynchus mykiss* e *Rhamdia quelen*) também demonstraram que o efeito anestésico do OEEG está associado a seu constituinte maioritário, o 1,8-cineol, pois este actua directamente nos canais de sódio dos neurónios dos gânglios cervicais superiores, bem como a ligação de receptores GABA, indicando que o 1,8-cineol tem mais de um mecanismo de acção (Da SILVA *et al.*, 2021; YIGIT *et al.*, 2022).

O mentol é o constituinte maioritário do OE de *Mentha piperita*, no presente estudo o mentol foi o componente principal do OEMP (70%). Estudos realizados com outras espécies de peixes (*Colossoma macropomum*, *Acipenser persicus*, *Rhamdia quelen* e *Cyrtocara moorii*) também demonstraram que o OEMP teve como componente maioritário o mentol com bom efeito anestésico (CAN e SÜMER, 2019; BRANDÃO *et al.*, 2021; FAÇANHA e GOMES, 2005; HOSEINI *et al.*, 2019; SPANGHERO *et al.*, 2019). O potencial anestésico deste OE pode ser atribuído ao seu componente maioritário o mentol e os OEs com altas concentrações deste componente podem ser usados como fontes do mentol para uso isolado.

O OE de *Eucalyptus citriodora* tem como constituinte maioritário o citronelal, que tem efeito fungicida, acaricida e anestésico, no presente estudo o citronelal foi o constituinte maioritário do OEEC (77,2%) seguido de citronelol (7,7%), este OE apresentou efeito anestésico na espécie estudada. Portanto, o efeito anestésico do OEEC em *O. niloticus* pode ser atribuído ao componente citronelal presente em alta proporção neste OE, indicando que os OEs que tenham como componente principal o citronelal tem potencial anestésico para peixes, e os

OEs com altas concentrações deste componente podem ser usados como fontes do mesmo para uso isolado.

Existem poucos estudos sobre anestesia em peixes com este OE. Segundo Coşansel e Can (2022) o OE de *Eucalyptus citriodora* apresentou em sua composição química o citronelal (73,2%), citronelol (7,41%) e Isopulegol (6,56%), este OE apresentou efeito anestésico sobre *Oncorhynchus mykiss*. Rolim *et al.* (2023) demonstrou que o OEEC tem efeito inseticida e acaricida sobre *Bovicola ovis* (piolhos), atribuindo a eficácia deste OE ao seu constituinte maioritário, o citronelal (63,9%).

E Tolba *et al.* (2015) demonstrou que o OEEC tem efeito antifúngico contra dermatofitos, e também apresentou em sua constituição química o citronelal (69,77%), citronelol (10,63%) e isopulegol (4,66%), este autor concluiu que este OE pode ser usado como fonte natural de um agente antifúngico para controle de infecções por fungos, sugerindo assim que este OE pode ter uma ampla utilização na aquacultura, para além de anestésico também como antifúngico.

6.2. Indução anestésica e recuperação

No primeiro momento de exposição aos anestésicos avaliados, os peixes apresentaram comportamento de hiperactividade, caracterizados por movimentos rápidos e de agitação, que foi reduzindo à medida que o anestésico surtia o efeito, este facto também foi observado por (HOHLENWERGER *et al.*, 2016; L.SANTOS, 2022; VIDAL *et al.*, 2008).

LIDOCAINA

Segundo Modede e Awopetu (2022), um dos agentes anestésicos comprovados na aquacultura devido a sua eficiência, acessibilidade, facilidade de usar e ambientalmente aceitável é o cloridrato de lidocaína solução a 2%, este foi usado como controle positivo no presente estudo na concentração padrão efectiva de 100mg/L. Contudo, o tratamento com a lidocaína não atingiu o estágio comportamental da anestésica profunda, levando os peixes ao estágio de sedação (~30 min), sugerindo que o efeito anestésico poderá ter sido influenciado por aspectos biológicos, como o tamanho do peixe ou ainda por aspectos relacionados aos parâmetros físicos e químicos da qualidade da água, como a temperatura e nível de oxigênio dissolvido, que foram descritos por Ross e Ross (2008) e por Sneddon (2012) como sendo alguns dos factores que podem afectar a eficácia da anestesia.

Estudos anteriores realizados com a tilápia do Nilo e com outras espécies de peixes, demonstraram que os efeitos sedativos e anestésicos da lidocaína foram alcançados com diferentes concentrações e diferentes tempos de indução. Segundo Modede e Awopetu

(2022), doses de cloridrato de lidocaína de 60, 70, 80 e 90 mg/L podem ser utilizados para sedação ou anestesia moderada (20 e 40 min), enquanto doses de 100 mg/L podem induzir anestesia em *Oreochromis niloticus* em menos de 4 minutos. Em seu estudo Chereen *et al.* (2014) relatou que peixes expostos a concentração de 300mg/L de lidocaína permaneceram no estágio de leve sedação e a concentração de 325mg/L pode ser usado para anestesia em procedimentos cirúrgicos em peixe zebra (*Danio rerio*) adulto, mas em doses mais altas apresentam baixa margem de segurança.

Segundo Marques *et al.* (2021) a imersão dos peixes por 45 minutos em baixas doses de lidocaína a 2 ou 5 mg/L mostrou efeitos benéficos sobre actividade respiratória dos peixes e na dose de 1 mg/L reduziu respostas comportamentais e fisiológicas adversas a dor em truta arco-íris. Contudo, no presente estudo foram usadas concentrações mais elevadas e um tempo de exposição de 30 min, mas não foi suficiente para levar os peixes ao estágio de anestesia profunda. Sugerindo assim que a eficácia da anestesia com lidocaína pode ter sido influenciada não só pela concentração usada, tempo de exposição ao anestésico, mas também pela influência de outros factores bióticos e abióticos, relacionados com a espécie, tamanho dos peixes, saúde do animal, parâmetros físicos e químicos da qualidade de água (OD e t°).

EUCALIPTO

O OE de *Eucalyptus globulus* tem efeito anestésico em peixes. No presente estudo o OE de *Eucalyptus globulus* não levou os peixes ao estágio de anestesia em ~30 min de exposição, atingindo somente o estágio de sedação, sugerindo que este OE poderá ser usada para a sedação em procedimentos de transporte de peixes, pois o tempo de recuperação foi rápido e sem observância de mortalidades. Contudo, o facto de o OEEG ter atingido o primeiro estágio da anestesia, a sedação, poderá provavelmente indicar que a concentração usada (100mg/L) deste OE no presente estudo, tenha sido menor, ou ainda a eficiência do anestésico tenha sido influenciada por outros factores como o tamanho do peixe e parâmetros de qualidade de água, pois a concentração usada foi muito inferior as relatadas por Da Silva *et al.*(2021) e por Yigit *et al.* (2022) para indução anestésica rápida.

Em estudos anteriores, em outras espécies de peixes (*Rhamdia quelen* e *Oncorhynchus mykiss*), este OE também demonstrou bom efeito anestésico em concentrações diferentes e com tempos de indução e recuperação também diferentes. Segundo Da Silva *et al.* (2021), este OE na concentração de 700µl/L foi considerado eficaz para anestesia em <3min e recuperação em 2 min em *Rhamdia quelen*, mas adverte que este OE deve ser usado com

cautela, pois não previne o aumento de parâmetros bioquímicos no sangue, como a glicose e lactato plasmático, mas evita o aumento do cortisol, estando relacionados com as respostas bioquímicas a exposição do anestésico. Para Yigit *et al.* (2022), o estágio de anestesia profunda com este OE foi alcançado com concentração de 400mg/L com tempos de indução e recuperação em 186 e 117,5 segundos, respectivamente.

O OE de *Eucalyptus citriodora* tem efeito fungicida, acaricida e anestésico, no presente estudo o OEEC teve como constituinte maioritário o citronelal (77,2%), este OE apresentou efeito anestésico na espécie estudada com tempo de indução de 9 min e o seu efeito anestésico pode ser atribuído ao constituinte principal. Porém, existem poucos estudos sobre anestesia em peixes com este OE e segundo Coşansel e Can (2022) o OE de *Eucalyptus citriodora* apresentou também em sua composição química o citronelal (73,2%) como constituinte maioritário, este OE teve bom efeito anestésico sobre *Oncorhynchus mykiss*, nas concentrações de 350 e 400 µl/L com indução anestésica em <3min e recuperação em <5min, sem observância de efeitos adversos.

Para Rolim *et al.* (2023) o OEEC também demonstrou que tem bom efeito inseticida e acaricida sobre *Bovicola ovis* (piolhos), atribuindo a eficácia deste OE ao seu constituinte maioritário, o citronelal (63,9%) e Tolba *et al.* (2015) demonstrou que este OE teve alto potencial antifúngico contra dermatofitos, e o seu constituinte maioritário também foi o citronelal (69,77%). Contudo, a presença do citronelal como composto maioritário nos OEs, sugere que este OE poderá ser usado como anestésico para peixes, assim como antifúngico e antiparasitário natural. Os OEs com altas concentrações deste componente podem ser usados como fontes do componente para uso isolado.

TOMILHO

Thymus vulgaris (T3) foi o anestésico mais eficaz em termos de tempo para anestesia completa e recuperação rápida, podendo ser recomendado para uso em tilápia do Nilo quando é necessário um efeito anestésico rápido e recuperação rápida. O óleo essencial de tomilho (*Thymus vulgaris*) apresentou melhor efeito anestésico na espécie estudada com tempos de anestesia e recuperação dentro dos critérios de tempo estabelecidos para um bom anestésico, sem observância da mortalidade e sem efeitos adversos. O efeito anestésico deste OE pode ser atribuído ao seu constituinte principal, o timol (40,4%), que em estudos anteriores, com outras espécies de peixes (*Cyprinus carpio*, *Sparidentax hasta*, *Acanthopagus latus* e

Rhamdia quelen) o também demonstrou bom efeito anestésico, assim como benefícios associados a desinfecção e aumento da imunidade (AZAD *et al.*, 2014).

O timol é o componente presente em altas quantidades nos OE de *Thymus vulgaris* e *Origanum vulgare*, segundo Bianchini *et al.* (2017) a concentrações de 100mg/L de timol levaram os peixes ao estágio de anestesia profunda em 170 segundos, sem observância da mortalidade em até 48 horas após a exposição. E Yousefi *et al.* (2018) induziu *Cyprinus carpio* a anestesia profunda com concentrações de 25 a 200mg/L de timol com tempos de indução de 850 a 60 segundos e recuperação em 210 a 60 segundos, respetivamente, e Gabriel *et al.* (2022) usou concentrações de 50 e 100 µl/L de OE de *Origanum vulgare*, que também tem como componente principal o timol, indicou como sendo as concentrações adequadas para anestesia rápida, mais a concentração de 25µl/L deste OE foi considerada mais segura para anestesia de *Oreochromis mossambicus* em procedimentos mais demorados como o maneo dos peixes.

No presente estudo os tempos para anestesia e recuperação com o OETV estavam dentro dos critérios de tempo para a selecção de um anestésico (anestesia rápida <3 min e uma rápida recuperação <10 min) segundo Spanghero *et al.* (2019), sem observância de efeitos adversos ou mortalidades. Este OE pode ser recomendado para anestesia de peixes e todos os OE que apresentarem o timol em altas proporções em sua composição química, pode ser um indicador do potencial anestésico.

HORTELÃ-PIMENTA

O OE de *Mentha piperita* e o mentol, o constituinte maioritário, foram amplamente estudados para anestesia em peixes. No presente estudo este OE teve efeito anestésico na espécie estudada e o constituinte principal foi o mentol (70%). Embora este OE tenha apresentado bom efeito anestésico para a espécie, foram observados fortes movimentos de agitação dos peixes ao contacto com o anestésico, que foi reduzindo com o passar do tempo, sugerindo provavelmente um efeito aversivo, mas sem mortalidades. O efeito anestésico deste OE poderá ser resultante da acção do seu constituinte principal, o mentol.

Estudos anteriores, em outras espécies de peixes (*Cyrtocara moorii*, *Colossoma macropomum*, *Rhamdia quelen*, *Aulonocara nyassae*, *Piaractus brachypomus*, *Prochilodus argenteus* e *Acipenser persicus*) também demonstraram que o OEMP tem bom efeito anestésico. Segundo Mazandarani e Hoseini (2017), relataram que o extrato de *Mentha piperita* causou movimentos excitantes severos que possivelmente estariam relacionados com

a sensação dos compostos químicos presentes neste OE, o mentol, pelos sistemas olfativo e gustativo do peixes resultando na activação de nociceptores do frio, indicou ainda que apesar do extrato de *Mentha piperita* possa ser usado como anestésico, este não é tão adequado para anestesia de juvenis de *Acipenser persicus* pois induziu ao estresse.

Segundo Spanghero *et al.* (2019) a concentração de 80 mg/L de OE de *Mentha piperita* foi suficiente para induzir juvenis de *Rhandia quelen* de 3g a anestesia profunda em 4 minutos e uma completa recuperação em 7 minutos, e Brandão *et al.* (2021) recomendou a dose de 90mg/L do OEMP como eficaz para anestesia em 4,5 min e recuperação em 14 min em *Colossoma macropomum*.

Para Ferreira (2022), a concentrações de 50 e 125 mg/L de mentol, principal constituinte do OEMP pode ser recomendado para anestesia de *Aulonocara nyassae* e concentrações entre 25 e 100mg/L de mentol induziu a anestesia juvenis do tipo I (1,01 g) e entre 50 e 125 mg/L de mentol induziu juvenis do tipo II (3,73 g) da espécie *Piaractus brachypomus* a anestesia profunda, com 100% de sobrevivência em até 24 horas após a exposição e Oliveira (2009), usou a concentração de 100mg/L de mentol para induzir anestesia profunda em *O. niloticus* de 40g com tempo de anestesia de 319,75 segundos e recuperação em 118,24 s.

Segundo Brandão *et al.* (2021) o OEMP pode ser considerado um anestésico eficiente na concentração de 80mg/L para juvenis de *Randia quelen* com tempo de anestesia menor que 4 minutos e recuperação em menos de 10 minutos sem registo de mortalidade, no entanto Spanghero *et al.* (2019), com a mesma concentração e com juvenis da mesma espécie relatou tempos de anestesia e recuperação de 4 e 7 minutos, respetivamente.

Para L.Santos (2022), o OEMP demonstrou ser eficiente anestésico para juvenis de *Prochilodus argenteus* na concentração de 170µl/L com tempo de anestesia e recuperação similares (<4 min e <10 min, respectivamente) aos relatados por Brandão *et al.* (2021). E Can e Sümer (2019), recomendou a concentração de 100µl/L como anestésico e concentrações entre 10 a 30 µl/L como sedativo em espécies de peixes tropicais como *Cyrtocara moorii* de 4,92g, como sendo as concentrações seguras. Façanha e Gomes (2005) mencionaram que o OEMP tem eficácia anestésica na concentração de 150mg/L para indução a anestesia cirúrgica em 0,51 min e recomendaram a concentração de 100mg/L para anestesia voltada para procedimentos de biometria e manejo em *Colossoma macropomum*, induzindo a anestesia em 4,39 minutos.

O mentol foi descrito por Simões e Gomes (2009), como não sendo um anestésico preferencial para uso em tilápia do Nilo pois em concentrações de 250 mg/L causou aumento da glicose sanguínea, um indicador de estresse. No presente estudo o componente maioritário do óleo essencial de *Mentha piperita* foi o mentol com 70% em sua composição e a concentração avaliada foi de 100mg/L com tempos de anestesia superiores aos encontrados por Brandão *et al.* (2021); Façanha e Gomes (2005) e por Spanghero *et al.* (2019), mas com um tempo de recuperação de 11 min, muito próximo ao relatado por estes autores e também sem observância da mortalidade dos peixes.

Embora as concentrações e os tempos de indução anestésica e recuperação tenham sido diferentes em estudos já realizados com este OE em várias espécies de peixes, este OE demonstrou ter bom efeito anestésico e a sua eficácia anestésica provavelmente está associado ao seu composto principal, o mentol e as diferenças nos tempos de anestesia e recuperação poderão estar relacionados a outros factores que influenciam a anestesia, como o tamanho do peixe, espécie, saúde, estado reprodutivo, parâmetros de qualidade de água (P^H, OD e t°), assim como a concentração do anestésico usada e o tempo de exposição.

MELALEUCA

O OE de *Melaleuca alternifolia* tem propriedades sedativas e anestésicas nos peixes, no presente estudo este OE teve efeito sedativo sobre a espécie estudada na concentração de 100mg/L em 30 min de exposição. Os peixes anestesiados com este OE não atingiram o estágio de anestesia profunda, sugerindo o seu uso para a sedação dos peixes nos procedimentos de transporte e o potencial anestésico deste OE poderá ser atribuído ao seu componente principal, o 1-terpinen-4-ol (40,5%). Portanto, o óleo essencial de *Melaleuca alternifolia*, na concentração usado no presente estudo, pode ser recomendado para o uso em tilápia do Nilo quando necessário um efeito sedativo, sugerindo o uso para procedimentos de transporte de peixes, no entanto para se atingir o efeito de anestesia profunda com o OE de *Melaleuca alternifolia*, provavelmente necessitaria de concentrações mais altas, que a usada no presente estudo.

Em estudos anteriores, em outras espécies de peixes (*Pangasius hypophthalmus*, *Amphiprion clarkii* e *Colossoma macropomum*) este OE também demonstrou efeitos sedativos e anestésicos. Segundo Rezende *et al.* (2017), o OE de *Melaleuca alternifolia* na concentração de 7,4mg/L foi favorável como sedativo e na prevenção do estresse durante o transporte de tilápia do Nilo e permitiu uma rápida recuperação dos peixes após soltura.

Para De Oliveira (2023), a concentração de 100µl/L do mesmo OE foi eficaz para induzir a sedação em 7 min e anestesia em 14 min em *Pangasius hypophthalmus* nas concentrações de 250, 300 e 350 µl/L e Correia (2015) anestesiou profundamente *Amphiprion clarkii* (peixe palhaço) com a concentração de 500µl/L em 40 segundos.

Segundo Bona (2021), a combinação de OE de cravo (150µl/L) e OEMA (50µl/L) como anestésico foi eficaz para anestesia de tilápia do Nilo, e E.Santos (2019) recomendou a concentração de 10 e 40 mg/L da combinação destes mesmos OEs, para o transporte de *Colossoma macropomum* em até 48 horas.

MANJERICÃO

O OE de *Ocimum basilicum* e OEs do mesmo gênero foram amplamente estudados como anestésicos para peixes. No presente estudo este OE teve bom efeito anestésico na espécie estudada, este efeito provavelmente seja pela acção do seu constituinte principal, o estragol (77,4%), mas houve observância de efeitos adversos como saltos repentinos sucessivos, sugerindo espasmos musculares involuntário, período de recuperação bastante longo em relação aos outros anestésicos testados, sugerindo um possível estresse anestésico e alta mortalidade. Apesar dos efeitos indesejados observados com este OE, este poderá ser o mais indicado para procedimentos que demandam de recuperação mais lenta, mais para um uso clínico ou de pesquisa mais abrangente, recomenda-se uma dosagem otimizada e consideração dos efeitos indesejados.

Segundo Abbas *et al.* (2006) e Da Silva *et al.* (2021), o que faz com que o tempo de recuperação a anestesia seja longo é o resultado da incapacidade do animal eliminar rapidamente a substância anestésica do seu corpo e os constantes espasmos musculares observados nos peixes submetidos ao OE, seguida de mortalidade durante a recuperação e em até 24 horas após o término dos testes, bem como uma recuperação tardia em relação aos outros óleos avaliados, isto foi descrito por Correia (2015), como estando relacionado com a inibição de acetilcolinesterase (AChE) nos músculos devido ao possível aumento dos níveis de acetilcolina, que é um neurotransmissor responsável pelas contrações musculares, indicando assim um provável mecanismo de acção deste OE. E segundo Limma-Netto *et al.* (2017) o tempo de recuperação é também afectado pelo aumento da concentração anestésica e depende da espécie de peixe e do anestésico usado, assim como pela capacidade do animal eliminar a substância anestésica do corpo, sugerindo que o longo período de recuperação observado com este OE provavelmente tenha sido afectado pela dose do anestésico.

Em estudos anteriores, com outras espécies de peixes (*Piaractus mesopotamicus* macho X *Colossoma macropomum* fêmea, *Oncorhynchus mykiss*, *Lophiosilurus alexandri*, *Amphiprion clarkii*, *Colossoma macropomum* e *Astyanax bimaculatus*) demonstraram também que o OEOB tem efeito anestésico. Porém, Aydın e Barbas (2020) relataram que os OEs de *Lippia sidoides* e *Aloysia gratissima* também demonstraram causaram efeitos adversos nos peixes anestesiados, como saltos repentinos devido a fortes contracções musculares involuntárias e mortalidade.

Para Limma-Netto *et al.* (2016) os melhores tempos de anestesia e recuperação (113,90 e 152,12 segundos) ocorreram na concentração de 300µl/L de OE de *Ocimum basilicum* em Tambacu (*Piaractus mesopotamicus* macho X *Colossoma macropomum* fêmea), mas em concentrações iguais ou superiores a 100µl/L ocorreu também anestesia dos peixes. Em outro estudo de Limma-Netto *et al.* (2017), a anestesia em juvenis de tilápia do Nilo expostos ao OEOB foi verificada a partir da concentração de 200µl/L, mas os melhores tempos de indução e recuperação (135,2 e 199,1 segundos) foram encontrados na concentração de 400µl/L.

Para Ferreira *et al.* (2021), o OE de *Ocimum gratissimum* do mesmo género que *Ocimum basilicum*, anestesiaram profundamente tilápias do Nilo de 41 g nas concentrações de 90 e 150mg/L sem observância da mortalidade em até 24 horas após os testes, indicando também que a concentração de 5mg/L deste OE pode ser usada como sedativo para o transporte de tilápias do Nilo de 12g em até 4,5 horas.

Segundo Ferreira *et al.* (2024), as concentrações de 50 e 200mg/L de OE de *Ocimum gratissimum* podem ser recomendado para anestesia de juvenis de *Colossoma macropomum* de 0,86g e 50 a 100mg/L para juvenis de 11,46g com rápida indução (180s) e recuperação rápida (300s), considerando este OE como eficiente sedativo e anestésico para juvenis desta espécie. E Adewale *et al.* (2017) recomendou concentrações de 60 a 100mg/L do OE de *Ocimum gratissimum* para anestesia de *O. niloticus* com peso de 20g, Da Silva *et al.* (2020) indicou a concentração de 60 µl/L do mesmo OE como eficazes para anestesia de *Astyanax bimaculatus* em menos de 3 min e Boaventura *et al.* (2020) recomendou a concentração de 90 e 150 mg/L de OE de *Ocimum gratissimum* como as ideias para indução anestésica de *Lophiosilurus alexandri* de 100g dentro dos intervalos ideais de indução anestésica e recuperação (<2min e <3 min, respectivamente), sem mortalidade.

Segundo Yigit *et al.* (2022), o OEOB teve boa eficácia como sedativo e anestésico em *Oncorhynchus mykiss*, a concentração de 300mg/L levou os peixes a anestesia e recuperação em 220,5 e 61 segundos, respetivamente e as concentrações de 50 a 100mg/L mostraram efeitos sedativos sobre esta espécie. As diferenças relacionadas com os tempos de indução e recuperação da anestesia e as concentrações usadas em estudos anteriores, podem estar associadas, segundo Sneddon (2012) a diversos factores biológicos como idade, sexo, peso, factores abióticos como parâmetros de qualidade de água, assim como aos relacionados a composição química do OE, que podem afectar a eficiência anestésica. Portanto, a presença do estragol como componente principal do OE pode indicar o seu potencial como anestésico para peixes, contudo o seu uso deve ter em conta os efeitos adversos.

6.3. Comparação do efeito anestésico dos diferentes OEs

Todos os seis óleos essenciais testados demonstraram actividade sedativa e anestésica sobre *O. niloticus*. No entanto os efeitos anestésicos variaram significativamente entre os diferentes anestésicos testados. A lidocaína (T0 – controle) e os óleos essenciais (EOs) de *Eucalyptus globulus* (T1) e *Melaleuca alternifolia* (T5) não apresentaram diferenças significativas sobre o efeito anestésico, levando os peixes ao estágio de sedação com tempos de indução anestésica semelhantes (~30 minutos) e significativamente maiores que os outros anestésicos. Os óleos essenciais de *Thymus vulgaris* (T3), *Ocimum basilicum* (T6), *Eucalyptus citriodora* (T2) e *Mentha piperita* (T4) levaram os peixes ao estágio de anestesia profunda com tempos de indução diferentes (~4, 6, 9 e ~23 minutos, respectivamente) (Figura 1).

Contudo, o OETV apresentou o melhor tempo de anestesia (~4 minutos), ausência de efeitos adversos e sem mortalidades na recuperação em relação a outros grupos testados, o segundo melhor efeito anestésico com base no tempo para anestésiar foi obtido pelo OE de *Ocimum basilicum* (T6) (~6 minutos), mas este, apesar de um bom efeito anestésico, apresentou efeitos colaterais como excessivos espasmos musculares involuntário, tempo de recuperação bastante longo (requerendo até $42,49 \pm 1,87$ minutos) e elevada mortalidade na recuperação, até 24 horas após o termino dos testes. Apesar de ter sido observado em todos os tratamentos comportamento de agitação caracterizados por movimentos rápidos dos peixes, no primeiro momento ao contacto com o anestésico, que foi reduzindo à medida que o este surtia o efeito, não foram observadas mortalidades com outros OEs na recuperação. O comportamento agitado dos peixes no primeiro momento em contacto com o anestésico, foi descrito por Hohlenwerger *et al.* (2016); L.Santos (2022) e por Vidal *et al.* (2008) como sendo normal no processo de anestesia em peixes.

A recuperação dos peixes foi muito similar entre os grupos, com exceção do T6 (*O. basilicum*) que teve um tempo de recuperação significativamente maior ($p \leq 0,003$) do que todos os outros anestésicos. A recuperação tardia dos peixes observada no T6, sugere que provavelmente esteja associada a incapacidade dos peixes eliminarem rapidamente a substância anestésica do seu organismo, como foi relatado por Abbas *et al.* (2006) e Da Silva *et al.* (2021). Quando comparado o efeito anestésico de todos os OEs testados, o OETV foi o melhor anestésico em termos de tempo para rápida anestesia e uma rápida recuperação, sem observância de efeitos adversos e sem mortalidade, portanto sendo considerado ideal para anestesia de *O. nitoticus*, segundo os critérios descritos por Spanghero *et al.* (2019), no qual menciona que um bom anestésico deve induzir anestesia em < 5 min e recuperação em < 10 min, não causar efeitos colaterais e nem mortalidade nos peixes.

Os efeitos sedativos e anestésicos observados nos OEs testados, provavelmente estejam relacionados com a sua composição química e pela acção dos seus compostos principais, o 1,8 cineol, citronelal, ρ -cimeno, timol, mentol, 1-terpinen-4-ol e estragol, que foram mencionados por Aydın e Barbas (2020) por apresentarem actividade anestésica em peixes. Sugerindo assim que as diferenças observadas no efeito anestésico com base nos tempos de indução e recuperação dos diferentes OEs estudados, estejam provavelmente relacionadas a composição química do óleo e a proporção do constituinte principal, apesar de que alguns OE tenham apresentado constituintes em comum na sua composição química, mas estes tiveram proporções diferentes.

6.4. Mortalidade dos peixes

A mortalidade dos peixes foi registada na recuperação e em 48 horas após o término dos testes anestésicos. Todos os peixes que não apresentaram sinais de recuperação, como a retoma dos movimentos operculares, foram considerados mortos. Foram observadas mortalidades de peixes nos grupos com os OEs de *Eucalyptus citriodora* (T2) e *Ocimum basilicum* (T6), mas o tratamento com OEOB apresentou maior número de peixes mortos na recuperação e até 24 horas após os testes anestésicos. Não foram observadas mortalidades nos outros grupos avaliados. Sugerindo que, embora o OEOB tenha tido um bom efeito anestésico, o uso deste OEs deve ser acautelado devido aos efeitos adversos e mortalidade nos peixes. Contudo, este efeito observado no T6 provavelmente poderá estar associado aos diversos factores mencionados por Rożyński *et al.* (2018), bem como aos efeitos causados pelos constituintes deste OE, sugerindo assim que está mortalidade possa ser por estresse

anestésico, pois as mortes prevaleceram em até 24 horas após o procedimento anestésico, que poderá ter sido influenciado pela dose do anestésico usada.

Segundo Rożyński *et al.* (2018) as reações adversas e a sensibilidade dos peixes ao anestésico dependem de muitos factores que estão relacionados com o tamanho, idade e saúde do peixe, temperatura da água usada para imersão, tempo de exposição e a concentração do anestésico usada.

Em estudos anteriores, usando o OEOb ou OEs do mesmo gênero, como anestésicos para outras espécies de peixes (*Piaractus mesopotamicus* macho X *Colossoma macropomum* fêmea, *Oncorhynchus mykiss*, *Lophiosilurus alexandri*, *Amphiprion clarkii*, *Colossoma macropomum* e *Astyanax bimaculatus*), não foram relatados efeitos aversivos ou mortalidades. Contudo Aydın e Barbas (2020) relataram que os OEs de *Lippia sidoides* e *Aloysia gratissima* causaram efeitos adversos nos peixes anestesiados, como saltos repentinos devido a fortes contrações musculares involuntárias e mortalidade. Sugerindo que existe algum constituinte presente nestes OEs que também esteja na composição química do OEOb, que possa provavelmente causar efeitos aversivos e mortalidade dos peixes.

7. CONCLUSÃO

Os resultados obtidos no presente estudo destacam o potencial do uso de óleos essenciais (OEs) como anestésicos na piscicultura ou em pesquisas com peixes;

Na composição química dos OEs, foram identificados 45 compostos, dos quais o 1,8 cineol, *p*-cimeno, citronelal, timol, mentol, 1-terpinen-4-ol e estragol, foram os componentes

principais e os responsáveis pelo efeito anestésico dos OEEG, OEEC, OETV, OEMP, OEMA e OEOb, respectivamente;

Todos OEs apresentaram propriedades sedativas e anestésicas para *Oreochromis niloticus*;

O óleo essencial de *Thymus vulgaris* foi o melhor anestésico em termos de tempo para uma rápida anestesia e rápida recuperação, podendo ser recomendado para uso em juvenis de tilápia do Nilo quando necessário um efeito anestésico rápido e recuperação rápida. Para procedimentos que demandam de recuperação mais lenta, OEOb é o mais indicado, mas recomenda-se uma dosagem otimizada e consideração dos efeitos colaterais.

8. RECOMENDAÇÕES

Para além da avaliação do comportamento e sobrevivência dos peixes aos anestésicos usados no presente estudo, muitas outras implicações da anestesia devem ser consideradas. Portanto recomenda-se que mais pesquisas são necessárias para determinar como os OEs e seus constituintes podem afectar a saúde e bem-estar dos peixes (parâmetros hematológicos, bioquímicos do sangue, enzimas hepáticas, estado antioxidante dos peixes, taxa de

ventilação, alterações morfológicas e potencial citotóxico) após anestesia, assim como, a necessidade de determinação do período de carência em diferentes condições.

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABBAS, H.H.H ; ABDEL-GAWAD, A.S e AKKR, A. A. (2006). Toxicity and Efficacy of Lidocaine as an Anesthetic for Nile Tilapia; *Oreochromis niloticus*. Pakistan Journal of Biological Sciences, 9(12), 2236–2242.
- ADEWALE, A. Y. ., ADESHINA, I. e Yusuf, O. V. (2017). Anaesthetic Effect of *Ocimum gratissimum* Extract on *Oreochromis niloticus* Juveniles. European Journal of Experimental Biology, 07(02). <https://doi.org/10.21767/2248-9215.100007>

- ALMEIDA, J. C. de, ALMEIDA, P. P. de, e GHERARDI, S. R. M. (2020). Potencial antimicrobiano de óleos essenciais: uma revisão de literatura de 2005 a 2018. *Nutritime Revista Eletrônica*, 17(1), 8623–8633.
- ALY, S. M., e ALBUTTI, A. (2014). Antimicrobials use in aquaculture and their public health impact. *Journal of Aquaculture Research and Development*, 5(4). <https://doi.org/10.4172/2155-9546.1000247>
- ANDRADE, M. B. (2010). **Uso da lidocaina e bupivacaina na anestesia espinal em *Trachemys dorbignyi* (Dumeril e Bibron, 1835) (Testudines-Emydidae)**. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias). Universidade Federal de Uberlândia.
- AQUI-S New Zealand Ltd. (2024). High Quality Versatile Aquatic Anaesthetics.*pdf*.
- ASSANE, I. M., VALLADÃO, G. M. R., e PILARSKI, F. (2021). Chemical composition, cytotoxicity and antimicrobial activity of selected plant-derived essential oils against fish pathogens. *Aquaculture Research*, 52(2), 793–809. <https://doi.org/10.1111/are.14935>
- AYDIN, B., e BARBAS, L. A. L. (2020). Sedative and anesthetic properties of essential oils and their active compounds in fish: A review. *Aquaculture*, 520, 734999. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.734999>
- AZAD, I. S., AL-YAQOUT, A., e AL-ROUMI, M. (2014). Antibacterial and immunity enhancement properties of anaesthetic doses of thyme (*Thymus vulgaris*) oil and three other anaesthetics in *Sparidentax hasta* and *Acanthopagrus latus*. *Journal of King Saud University - Science*, 26(2), 101–106. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2013.12.003>
- BARRETO-CURIEL, F., DURAZO, E., e VIANA, M. T. (2015). Crecimiento, excreción de amonio y consumo de oxígeno de la tilapia híbrida roja (*Oreochromis mossambicus* × *Oreochromis aureus*) cultivada en agua de mar y en agua dulce. *Ciencias Marinas*, 41(3), 247–254. <https://doi.org/10.7773/cm.v41i3.2526>
- BECKER, A. J., FOGLIARINI, C. de O., SOUZA, C. de F., BECKER, A. G., MOURÃO, R. H. V., da SILVA, L. V. F., e BALDISSEROTTO, B. (2018). Ventilatory frequency and anesthetic efficacy in silver catfish, *Rhamdia quelen*: A comparative approach between different essential oils. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 47. <https://doi.org/10.1590/rbz4720170185>
- BIANCHINI, A. E., GARLET, Q. I., Da CUNHA, J. A., BANDEIRA JUNIOR, G., BRUSQUE, I. C. M., SALBEGO, J., HEINZMANN, B. M., e BALDISSEROTTO, B. (2017). Monoterpenoids (Thymol, carvacrol and S-(+)-linalool) with anesthetic activity in silver catfish (*Rhamdia quelen*): Evaluation of acetylcholinesterase and GABAergic activity. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 50(12), 1–8. <https://doi.org/10.1590/1414-431x20176346>
- BOAVENTURA, T. P., SOUZA, C. F., FERREIRA, A. L., FAVERO, G. C., BALDISSERA, M. D., HEINZMANN, B. M., BALDISSEROTTO, B., e LUZ, R. K. (2020). Essential oil of *Ocimum gratissimum* (Linnaeus, 1753) as anesthetic for *Lophiosilurus alexandri*: Induction, recovery, hematology, biochemistry and oxidative stress. *Aquaculture*, 529, 735676. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735676>
- BONA, A. M. (2021). **Mitigando a Toxicidade do Óleo de Cravo-da-Índia Durante a Anestesia de Tilápias (*Oreochromis niloticus*)**. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Universidade Vila Velha.
- BRANDÃO, F. R., FARIAS, C. F. S., De MELO SOUZA, D. C., De OLIVEIRA, M. I. B.,

- de MATOS, L. V., MAJOLO, C., de OLIVEIRA, M. R., CHAVES, F. C. M., de ALMEIDA O'SULLIVAN, F. L., e CHAGAS, E. C. (2021). Anesthetic potential of the essential oils of *Aloysia triphylla*, *Lippia sidoides* and *Mentha piperita* for *Colossoma macropomum*. *Aquaculture*, 534. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.736275>
- CALDEIRA, A. C. B., De SOUZA, C. J. F., COSTA, M. V. de A., SOARES, R. de P., e GONÇALVES, G. S. (2022). Anestesia em tilápia (*Oreochromis niloticus*). *Brazilian Journal of Health Review*, 5(6), 22095–22105. <https://doi.org/10.34119/bjhrv5n6-021>
- CAN, E., e SUMER, E. (2019). Anesthetic and sedative efficacy of peppermint (*Mentha piperita*) and lavender (*Lavandula angustifolia*) essential oils in blue dolphin cichlid (*Cyrtocara moorii*). *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 43(3), 334–341. <https://doi.org/10.3906/vet-1809-22>
- CAVALCANTE, C. A. R. De, Da SILVA, S. R., SALES, I. J., GUIMARÃES, F. F., OLIVEIRA, W. S., e ARAUCO, L. R. R. (2013). Avaliação do tempo de indução e recuperação anestésica em tilápia (*Oreochromis niloticus*) com diferentes concentrações de lidocaina. 40° CONBRAVET.
- CAVALCANTE, H.T.M., Dos SANTOS, N.S., OLIVEIRA, A.P., Dos SANTOS, J.P., Dos SANTOS, J.N., RODRIGUES, V.T. S., GOMES JUNIOR, D.C., PARAZZI, L.J. e VIEIRA, L. C. A. S. (2021). Óleos essenciais no tratamento de dermatozoonoses – uma revisão de literatura Essential oils in the treatment of dermatozoonoses – a literature review. *Research, Society and Development*.10(17), 1–10.
- CHEREEN, C., TOLWANI, A., LIEGGI, C., e RASMUSSEN, S. (2014). Efficacy and safety of 5 anesthetics in adult zebrafish (*Danio rerio*). *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*, 53(2), 198–203.
- CORREIA, A. M. (2015). **Uso dos óleos essenciais *Eugenia caryophyllata*, *Melaleuca alternifolia* e *Ocimum basilicum* como anestésicos e analgésicos em peixes-palhaços *Amphiprion clarkii***. Dissertação (Mestrado em Aquicultura). Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis.
- CONSANSEL, Ç., e CAN, E. (2022). Truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) Juvenis: Eficácia dos Óleos Essenciais de Cravo (*Eugenia caryophyllus*), Eucalipto (*Eucalyptus citriodora*) e Melisa (*Melisa officinalis*) na Determinação de Concentrações Anestésicas. *International Journal. Pure Application Science (IJPAS)*, 8(2), 415–423. <https://doi.org/10.29132/ijpas.1062760>
- Da COSTA, J. C., VALLADÃO, G. M. R., PALA, G., GALLANI, S. U., KOTZENT, S., CROTTI, A. E. M., FRANCAROLLI, L., Da SILVA, J. J. M., e PILARSKI, F. (2017). Copaifera duckei oleoresin as a novel alternative for treatment of monogenean infections in pacu *Piaractus mesopotamicus*. *Aquaculture*, 471, 72–79. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.11.041>
- Da SILVA, E., ALDEGUNDE, M., Da SILVA, D. F., LOPES, C., BERTOLDI, F. C., e WEBER, R. A. (2020). Assessment of induction and recovery times of anaesthesia in *Astyanax bimaculatus* using 2-phenoxyethanol and the essential oils of *Melaleuca alternifolia* and *Ocimum gratissimum*. *Aquaculture Research*, 51(2), 577–583. <https://doi.org/10.1111/are.14404>
- Da SILVA, E., DESCHAMPS, G. T., MATTER, F. de L., BERTOLDI, F. C., ALDEGUNDE, M., Da SILVA, D. F., LOPES, C., JATOBÁ, A., e WEBER, R. A. (2021). The anaesthetic efficacy of *Eucalyptus globulus* essential oil on silver catfish (*Rhamdia quelen*). *Aquaculture Research*, 52(11), 5190–5197.

<https://doi.org/10.1111/are.15388>

- DAWOOD, M. A. O., BASUINI, M. F. El, YILMAZ, S., ABDEL-LATIF, H. M. R., ALAGAWANY, M., ABDUL. K. Z., RAZAB, K. A. A., HAMID, K. A. M., MOONMANEE, N. T., e DOAN, H. V. (2022). Exploring the Role of Dietary Herbal Essential Oils as Natural Antioxidative Agents in Aquaculture: A review. *Animals*, 12(823), 1–19. <https://doi.org/10.3390/ani12070823>
- DAWOOD, M. A. O., NORELDIN, A. E., ALI, M. A. M., e SEWILAM, H. (2021). Menthol essential oil is a practical choice for intensifying the production of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*): Effects on the growth and health performances. *Aquaculture*, 543, 737027. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.737027>
- De AVELAR, B. R., LAMBERT, M. M., SIQUEIRA, R. C. dos S., CID, Y. P., CHAVES, D. S. A., e COUMENDOUROS, K. (2016). Atividade in vitro de oleos essenciais e extratos de *Shinus molle* L. frente a *Rhipicephalus microplus*. *Revista Brasileira de Medicina Veterinaria*, 38(3), 183–187.
- De SOUZA, C. F., BALDISSERA, M. D., BALDISSEROTTO, B., HEINZMANN, B. M., MARTOS-SITCHA, J. A., e MANCERA, J. M. (2019). Essential oils as stress-reducing agents for fish aquaculture: A review. *Frontiers in Physiology*, 10. <https://doi.org/10.3389/fphys.2019.00785>
- De SOUZA, C. F., BALDISSERA, M. D., SILVA, L. De L., GEIHS, M. A., e BALDISSEROTTO, B. (2018). Is monoterpene terpinen-4-ol the compound responsible for the anesthetic and antioxidant activity of *Melaleuca alternifolia* essential oil (tea tree oil) in silver catfish? *Aquaculture*, 486, 217–223. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.12.025>
- De OLIVEIRA, A. T. R. (2023). Óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* sobre o comportamento e efeito anestésico em *Pangasius hypophthalmus*. Universidade Federal do Maranhão. In: *International Journal of Technology*. <https://doi.org/10.1016/j.tranpol.2019.01.002>
- De SOUZA, E. M., De SOUZA, R. C., MELO, J. F. B., Da COSTA, M. M., De SOUZA, A. M., e COPATTI, C. E. (2019). Evaluation of the effects of *Ocimum basilicum* essential oil in Nile tilapia diet: growth, biochemical, intestinal enzymes, haematology, lysozyme and antimicrobial challenges. *Aquaculture*, 504, 7–12. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.01.052>
- De SOUZA, R. A., De CARVALHO, C. V. A., NUNES, F. F., SCOPEL, B. R., GUARIZI, J. D., e TSUZUKI, M. Y. (2012). Efeito comparativo da benzocaina, mentol e eugenol como anestésicos para juvenis de robalo peva. *Boletim Do Instituto de Pesca*, 38(3), 247–255.
- DUARTE, F. O. S. (2017). **Caracterizaçã da Carne da Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) Submetida á Dietas Suplementadas com Óleo de Peixe**. Tese (Doutoramento em Ciência Animal). Universidade Federal de Goias.
- EL-SAYED, A. F. M. (2006). *Tilapia Culture*. CABI publish.
- EL-SAYED, A. M., e FITZSIMMONS, K. (2023). From Africa to the world—The journey of Nile tilapia. *Reviews in Aquaculture*, 15(S1), 6–21. <https://doi.org/10.1111/raq.12738>
- FAÇANHA, M. F., e GOMES, L. de C. (2005). A eficácia do mentol como anestésico para tambaqui (*Colossoma macropomum*, Characiformes: Characidae). *Acta Amazonica*, 35(1), 71–75. <https://doi.org/10.1590/s0044-59672005000100011>

- FAO, Food and Agriculture Organization. (2024a). Produção da Aquicultura em Moçambique.pdf.
- FAO, Food and Agriculture Organization (2024b). The State of World Fisheries and Aquaculture 2024. Blue Transformation in action. <https://openknowledge.fao.org/handle/20.500.14283/cd0683en>
- FDA, Food and Drug Administration. (2024). Approved Aquaculture Drugs.pdf.
- FERREIRA, D. e BARCELLOS, L. J. G. (2008). Enfoque Combinado Entre as Boas Práticas de Manejo e as Medidas Mitigadoras de Estresse na Piscicultura. Boletim do Instituto de Pesca, 34(4), 601–611.
- FERREIRA, A. L., FAVERO, G. C., BOAVENTURA, T. P., De FREITAS SOUZA, C., FERREIRA, N. S., DESCOVI, S. N., BALDISSEROTTO, B., HEINZMANN, B. M., e LUZ, R. K. (2021). Essential oil of *Ocimum gratissimum* (Linnaeus, 1753): efficacy for anesthesia and transport of *Oreochromis niloticus*. Fish Physiology and Biochemistry, 47(1), 135–152. <https://doi.org/10.1007/s10695-020-00900-x>
- FERREIRA, A. L. (2022). **Uso de diferentes anestésicos para manipulação biométrica e transporte de peixes de água doce**. Tese (Doutoramento em Zootecnia). Universidade Federal de Minas Gerais. <https://doi.org/10.21450/rahis.v0i2.782>
- FERREIRA, A. L., De SOUZA, S. W., Da SILVA, H. N. P., De FREITAS, M. C., PALHETA, G. D. A., HEINZMANN, B. M., PINHEIRO, C. G., BALDISSEROTTO, B., FAVERO, G. C., e LUZ, R. K. (2024). Oxidative responses in small juveniles of *Colossoma macropomum* anesthetized and sedated with *Ocimum gratissimum* L. essential oil. Fish Physiology and Biochemistry, 1–26. <https://doi.org/10.1007/s10695-024-01350-5>
- FREIRE, M. V. D. C., SALES JUNIOR, R. De A., COSTA, M. G. A., e FERREIRA, R. L. (2019). Transporte de organismos aquáticos: Procedimento fundamental para desenvolvimento da aquicultura. PUBVet, (3), 1–10. ISSN 1982-1263.
- GABRIEL, N. N., LISWANISO, G. M., HAIHAMBO, W., e ABASUBONG, K. P. (2022). The Effects of *Origanum vulgare* L. Essential Oils on Anaesthesia and Haemato-Biochemical Parameters in Mozambique Tilapia (*Oreochromis mossambicus*) Post-Juveniles. Aquaculture Journal, 2(4), 257–268. <https://doi.org/10.3390/aquacj2040015>
- GIFT, Genetic Improvement of Farmed Tilapias (GIFT) Project Final Report. (1993). December.
- HAJEK, G. J. (2011). The anaesthetic-like effect of tea tree oil in common carp *Cyprinus carpio* L. Aquaculture Research, 42, 296–300. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2010.02625.x>
- HASIMUNA, O. J., MONDE, C., MWEEMBA, M., e NSONGA, A. (2020). The anaesthetic effects of sodium bicarbonate (baking soda) on greenhead tilapia (*Oreochromis macrochir*, Boulenger 1912) broodstock. Egyptian Journal of Aquatic Research, 46(2), 195–199. <https://doi.org/10.1016/j.ejar.2019.12.004>
- HOHLENWERGER, J. C., BALDISSEROTTO, B., COUTO, R. D., HEINZMANN, B. M., Da SILVA, D. T., CARON, B. O., SCHMIDT, D., e COPATTI, C. E. (2017). Óleo essencial de *Lippia alba* no transporte de tilápia-do-Nilo. Ciência Rural, 47(3), 47–50. <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20160040>
- HOHLENWERGER, J. C., COPATTI, C. E., CEDRAZ, S., A., COUTO, R. D.,

- BALDISSEROTTO, B., HEINZMANN, B. M., CARON, B. O., e SCHMIDT, D. (2016). Could the essential oil of *Lippia alba* provide a readily available and cost-effective anaesthetic for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*)?. *Marine and Freshwater Behaviour and Physiology*, 49(2), 119–126. <https://doi.org/10.1080/10236244.2015.1123869>
- HOSEINI, S. M., MIRGHAED, A. T., e YOUSEFI, M. (2019). Application of herbal anaesthetics in aquaculture. *Reviews in Aquaculture*, 11(3), 550–564. <https://doi.org/10.1111/raq.12245>
- HOU, T., SANA, S. S., LI, H., XING, Y., NANDA, A., NETALA, V. R., e ZHANG, Z. (2022). Essential oils and its antibacterial, antifungal and anti-oxidant activity applications: A review. *Food Bioscience*, 47, 101716. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2022.101716>
- IDEPA, Instituto de Desenvolvimento da Pesca e Aquicultura. (2020). *Estratégia para o Desenvolvimento da Aquicultura 2020-2030*. Ministério Do Mar, Águas Interiores e Pescas, 1–57.
- INFOSA, Fish Infonetwork. (2009). *Plano de Desenvolvimento da Aquicultura de Pequena Escala em Moçambique*. 1–16.
- LIMMA-NETTO, J. D., SENA, A. C., e COPATTI, C. E. (2016). Essential oils of *Ocimum basilicum* and *Cymbopogon flexuosus* in the sedation, anesthesia and recovery of tambacu (*Piaractus mesopotamicus* male x *Colossoma macropomum* Female). *Boletim Do Instituto de Pesca*, 42(3), 727–733. <https://doi.org/10.20950/1678-2305.2016v42n3p727>
- LIMMA-NETTO, J. D. L., OLIVEIRA, R. S. M., e COPATTI, C. E. (2017). Efficiency of essential oils of *Ocimum basilicum* and *Cymbopogon flexuosus* in the sedation and anaesthesia of Nile tilapia juveniles. *Anais Da Academia Brasileira de Ciencias*, 89(4), 2971–2974. <https://doi.org/10.1590/0001-3765201720170001>
- MAPA, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. (2022). *Manual de Boas Práticas na Criação de Peixes de Cultivo*. 1 ed, 171.
- MARQUES, K. D., CAVALCANTE, L. V., NAKAGOMI, C. S., DOS SANTOS, A. R. G., e MERGULHÃO, F. V. (2021). Anesthesia e analgesia em peixes teleósteos / Anesthesia and analgesia in teleost fish. *Brazilian Journal of Development*, 7(8), 79603–79608. <https://doi.org/10.34117/bjdv7n8-257>
- MAZANDARANI, M., e HOSEINI, S. M. (2017). Anesthesia of juvenile Persian sturgeon, *Acipenser persicus*; Borodin 1897, by peppermint, *Mentha piperita*, extract – Anesthetic efficacy, stress response and behavior. *International Journal of Aquatic Biology*, 5(6), 393–400. <http://ij-aquaticbiology.com/index.php/ijab/article/view/391>
- MAZANDARANI, M., HOSEINI, S. M., e GHOMSHANI, M. D. (2017). Effects of linalool on physiological responses of *Cyprinus carpio* (Linnaeus, 1758) and water physico-chemical parameters during transportation. *Aquaculture Research*, 48(12), 5775–5781. <https://doi.org/10.1111/are.13400>
- MENG, R., WU, S., CHEN, J., CAO, J., LI, L., FENG, C., LIU, J., LUO, Y., e HUANG, Z. (2022). Alleviating effects of essential oil from *Artemisia vulgaris* on enteritis in zebrafish via modulating oxidative stress and inflammatory response. *Fish & Shellfish Immunology*, 131, 323–341. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2022.10.010>
- MODEDE, O. V., e AWOPETU, T. S. (2022). Anaesthetic and Histological Effects of

- Lidocaine Hydrochloride on *Oreochromis niloticus* Juveniles. Asian Journal of Fisheries and Aquatic Research, 19(6), 14–22. <https://doi.org/10.9734/ajfar/2022/v19i6478>
- MORAIS, L.A.S. (2009). Influência Dos Fatores Abióticos na Composição Química Dos Óleos Essenciais. Horticultura Brasileira, 27(2), 4050–4063. <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/143457/1/2009AA-051.pdf>
- MP, Ministério das Pescas. (2008). Strategy for the development of aquaculture in Mozambique 2008-2017. <http://www.mimaip.gov.mz/wp-content/uploads/2018/09/Estrategia-Aquacultura.pdf>
- MUHALA, V., RUMIEQUE, A., e HASIMUNA, O. J. (2021). Aquaculture production in Mozambique: Approaches and practices by farmers in Gaza province. Egyptian Journal of Aquatic Research, 47(1), 87–92. <https://doi.org/10.1016/j.ejar.2020.11.004>
- NEYRÃO, I. M., CONRADO, A. L., e LOPES, P. R. S. (2024). Physiological responses of jundiá *Rhamdia quelen* juveniles anesthetized with different concentrations of lidocaine hydrochloride (Lidostesim® 3%). Brazilian Journal of Science, 3(3), 56–62. <https://doi.org/10.14295/bjs.v3i3.541>
- OLIVEIRA-NETO, R. R., MASTROCHIRICO-FILHO, V. A., ASSANE, I. M., ARIEDE, R. B., FREITAS, M. V., AGUDELO, J. F. G., BORGES, C. H. S., GONÇALVES, T. G., LIRA, L. V. G., REIS-NETO, R. V., PILARSKI, F., e HASHIMOTO, D. T. (2024). Resistance of juvenile Nile tilapia *Oreochromis niloticus* from Brazilian populations to *Streptococcus agalactiae* (serotype Ib and ST-NT). Frontiers in Aquaculture, 3, 1–8. <https://doi.org/10.3389/faqc.2024.1354029>
- OLIVEIRA, A. D. S. (2009). **Avaliação de três anestésicos para espécies de peixes reprodutores utilizando o método de imersão**. Dissertação (Mestrado em Biologia Animal). Universidade Federal de Viçosa.
- OSTRENSKY, A., DAL PONT, G., GERALDINE, G., WESTPHAL, C., e PEDRAZZANI, A. S. (2016). Use of Clove, Mint and Camphor Essential Oils on Confinement of Clown Anemonefish *Amphiprion ocellaris* (Cuvier 1830): Anesthetic Effects and Influence on Water Quality. Journal of Aquaculture Research & Development, 7(11). <https://doi.org/10.4172/2155-9546.1000457>
- PARK, I. S., CHO, S. H., HUR, J. W., CHOI, G. C., OH, S. Y., KIM, D. S., e LEE, J. S. (2006). Lidocaine hydrochloride-sodium bicarbonate as an anesthetic for soft-shelled turtle *Pelodiscus sinensis*. Fisheries Science, 72(1), 115–118. <https://doi.org/10.1111/j.1444-2906.2006.01124.x>
- PARK, M. O., HUR, W. J., IM, S. Y., SEOL, D. W., LEE, J., e PARK, I. S. (2008). Anaesthetic efficacy and physiological responses to clove oil-anaesthetized kelp grouper *Epinephelus bruneus*. Aquaculture Research, 39(8), 877–884. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2008.01941.x>
- POSTAY, L. F. (2019). **Efeito de Tensoativos no uso de óleos essenciais de *Lippia alba* para anestesia de tilapia do Nilo (*Oreochromis niloticus*)**. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacéuticas). Universidade Vila Velha.
- REZENDE, F. P., PASCOAL, L. M., VIANNA, R. A., e LANNA, E. A. T. (2017). Sedation of Nile Tilapia With Essential Oils: Tea Tree, Clove, Eucalyptus, and Mint Oils. Revista Caatinga, 30(2), 479–486. <https://doi.org/10.1590/1983-21252017v30n223rc>
- RODRIGUES, P. (2020). **Compostos voláteis como Sedativos/Anestésicos e Antinociceptivos em Peixes**. Dissertação (Mestrado em Farmacologia). Universidade

Federal de Santa Maria.

- ROLIM, C. M. D. M., GOMES, L. V. L., SILVA, J. N. D., AGUIAR, A. A. R. M., LIMA, M. L. O., PAIVA, R. R. L. T., DANTAS, I. L. M., DUARTE, V. M. D. S., PEIXOTO, J. Y. F., CORREIO, W. A. C. C., ANDRE, W. P. P., e PEREIRA, J. (2023). Eficácia in vitro do Óleo Essencial de *Corymbia citriodora* Hill e Johnson (*Eucalyptus citriodora* Hook) Sobre *Bovicola ovis* (Schrank , 1781). Archives of Veterinary Science. <https://doi.org/10.5380/avs>
- ROSS, L. G., e ROSS, B. (2008). Anaesthetic and Sedative Techniques for Aquatic Animals (L. G. Ross & B. Ross (Eds.)). Wiley. <https://doi.org/10.1002/9781444302264>
- ROŻYŃSKI, M., HOPKO, M., STAWECKI, K., e ZAKĘS, Z. (2018). Impact of fish size, water temperature, and MS-222 concentration on inducing general anesthesia in pikeperch (*Sander lucioperca*). Aquaculture Research, 49(8), 2774–2781. <https://doi.org/10.1111/are.13738>
- SACCOL, E. M. H. (2016). **Óleos essenciais de *Myrcia sylvatica* e *Curcuma longa* como anestésicos para peixes: efeitos sobre as respostas fisiológicas.** Tese (Dotoramento em Farmacologia). Universidade Federal de Santa Maria.
- SANCHES, F. H. e MORALES, M. E. A. (2012). Nutritional Richness and Importance of the Consumption of Tilapia in the Papaloapan Region (Riqueza nutricional e importancia del consumo de la mojarra tilapia en la región del Papaloapan). REDVET, 13(6).
- SANTOS, L. C. (2022). **Toxicidade e o efeito anestésico do óleo essencial de Hortelã-pimenta (*Mentha piperita*) em juvenis de Curimata-pacu (*Prochilodus argenteus*).** Monografia (Licenciatura em Engenharia de Pesca). Universidade Federal de Alagoas. Issue 8.5.2017. www.aging-us.com
- SANTOS, E. S., Da SILVA, T. G. e De FREITAS, R. M. (2016). Eugenol different concentrations for anesthesia mollies sp . Revista Brasileira de Engenharia de Pesca, 9(2), 10–18. ISSN 2175-3008.
- SANTOS, A. S., ALVES, S. de M., FIGUEIRÊDO, F. J. C., e NETO, O. G. Da R. (2004). Descrição de sistemas e de métodos de extração de óleos essenciais e determinação de umidade de biomassa em laboratório. Embrapa, 99(91), 1517–2244.
- SANTOS, E. L. R. (2019). **Utilização de fitoterápicos como redutor de estresse no transporte de Tambaqui (*Colossoma macropomum*).** Dissertação (Mestrado em Sanidade Animal e Saúde Pública nos Tropicis). Universidade Federal de Tocantis.
- SCHROEDER, P., LLOYD, R., MCKIMM, R., METSELAAR, M., NAVARRO, J., O'FARRELL, M., READMAN, G. D., SPEILBERG, L., e MOCHO, J. P. (2021). Anaesthesia of laboratory, aquaculture and ornamental fish: Proceedings of the first LASA-FVS Symposium. Laboratory Animals, 55(4), 317–328. <https://doi.org/10.1177/0023677221998403>
- SENA, A. C., TEIXEIRA, R. R., FERREIRA, E. L., HEINZMANN, B. M., BALDISSEROTTO, B., CARON, B. O., SCHMIDT, D., COUTO, R. D., e COPATTI, C. E. (2016). Essential oil from *Lippia alba* has anaesthetic activity and is effective in reducing handling and transport stress in tambacu (*Piaractus mesopotamicus* × *Colossoma macropomum*). Aquaculture, 465, 374–379. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.09.033>
- SHOURBELA, R. M., EL-HAWARRY, W. N., EL-FADADNY, M. R., e DAWOOD, M. A. O. (2021). Oregano essential oil enhanced the growth performance, immunity, and

- antioxidative status of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) reared under intensive systems. *Aquaculture*, 542, 736868. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.736868>
- SILVEIRA, J. C., BUSATO, N. V., Da COSTA, A. O. S., e Da COSTA JUNIOR, E. F. (2012). Levantamento e Análise de Métodos de Extração de Óleos Essenciais. *Enciclopedia Biosfera*, 8(15), 2038–2052.
- SIMÕES, L. N., e GOMES, L. C. (2009). Eficácia do mentol como anestésico para juvenis de tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*). *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 61(3), 613–620. <https://doi.org/10.1590/s0102-09352009000300014>
- SIMÕES, L. N., GOMIDE, A. T. M., ALMEIDA-VAL, V. M. F., VAL, A. L., e GOMES, L. C. (2012). O uso do óleo de cravo como anestésico em juvenis avançados de tilápia do nilo (*Oreochromis niloticus*). *Acta Scientiarum - Animal Sciences*, 34(2), 175–181. <https://doi.org/10.4025/actascianimsci.v34i2.13022>
- SINGH, M., e SINGH, P. (2018). Drugs and chemicals applied in aquaculture industry: A review of commercial availability, recommended dosage and mode of application. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 6(6), 903–907. <https://www.researchgate.net/publication/334604435>
- SNEDDON, L. U. (2012). Clinical Anesthesia and Analgesia in Fish. *Journal of Exotic Pet Medicine*, 21(1), 32–43. <https://doi.org/10.1053/j.jepm.2011.11.009>
- SPANGHERO, D. B. N., SPANGHERO, E. C. A. De M., PEDRON, J. Dos S., CHAGAS, E. C., CHAVES, F. C. M., & ZANIBONI-FILHO, E. (2019). Peppermint essential oil as an anesthetic for and toxicity to juvenile silver catfish. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 54(00367). <https://doi.org/10.1590/s1678-3921.pab2019.v54.00367>
- STEFFENS, A. H. (2010). **Estudo da composição química dos óleos essenciais obtidos por destilação por arraste a vapor em escala laboratorial e industrial**. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Tecnologia de Materiais). Pontifícia Universidade Católica Do Rio Grande Do Sul.
- SYNDEL. (2024). Anestésico Sintetico Syndel.pdf.
- TEIXEIRA, R. R., De SOUZA, R. C., SENA, A. C., BALDISSEROTTO, B., HEINZMANN, B. M., e COPATTI, C. E. (2018). Essential oil of *Aloysia triphylla* is effective in Nile tilapia transport. *Boletim Do Instituto de Pesca*, 44(1), 17–24. <https://doi.org/10.20950/1678-2305.2018.263>
- THE ASEAN SECRETARIAT. (2013). Guidelines for the Use of Chemicals in Aquaculture and Measures to Eliminate the Use of Harmful Chemicals. In: Association of Southeast Asian Nations. [https://www.asean.org/storage/images/resources/ASEAN_Publication/2013_\(12._Dec\)_-ASEAN_Guidelines_for_Chemicals_Final.pdf](https://www.asean.org/storage/images/resources/ASEAN_Publication/2013_(12._Dec)_-ASEAN_Guidelines_for_Chemicals_Final.pdf)
- TOLBA, H., MOGHRANI, H., BENELMOUFFOK, A., KELLOU, D., e MAACHI, R. (2015). Essential oil of Algerian *Eucalyptus citriodora*: Chemical composition , antifungal activity. *Journal de Mycologie Medicale*. <https://doi.org/10.1016/j.mycmed.2015.10.009>
- TONDOLO, J. S. M. (2011). **Atividade Anestésica em Robalos-Peva (*Centropomus parallelus*) e Caracterização Química do Óleo Essencial das Folhas de *Nectandra megapotamica* (Spreng .) Mez (Lauraceae)**. Dissertação (Mestrado em Farmacologia). Universidade Federal de Santa Maria.
- TONI, C. (2015). **Óleos Essenciais como Anestésicos para Peixes : Aspectos Bioquímicos**

e Moleculares. Tese (Doutoramento em Farmacologia Aplicada a Produção Animal). Universidade Federal de Santa Maria.

- TOPIC-POPOVIC, N., STRUNJAK-PEROVIC, I., COZ-RAKOVAC, R., BARISIC, J., JADAN, M., PERSIN-BERAKOVIC, A., e SAUERBORN-KLOBUCAR, R. (2012). Tricaine methane-sulfonate (MS-222) application in fish anaesthesia. *Journal of Applied Ichthyology*, 28(4), 553–564. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0426.2012.01950.x>
- VALLADÃO, G. M. R., GALLANI, S. U., KOTZENT, S., ASSANE, I. M., e PILARSKI, F. (2019). Effects of dietary thyme essential oil on hemato-immunological indices, intestinal morphology, and microbiota of Nile tilapia. *Aquaculture International*, 27(2), 399–411. <https://doi.org/10.1007/s10499-018-0332-5>
- VENTURA, A. S., SILVA, T. S. De C., ZANON, R. B., INOUE, L. A. K. A., e CARDOSO, C. A. L. (2019a). Physiological and pharmacokinetic responses in neotropical *Piaractus mesopotamicus* to the essential oil from *Lippia sidoides* (Verbenaceae) as an anesthetic. *International Aquatic Research*, 11(1), 1–12. <https://doi.org/10.1007/s40071-019-0215-z>
- VENTURA, A. S., SOUZA, T., SILVA, D. C., ANDREA, C., CARDOSO, L., ANTÔNIO, L., e AOKI, K. (2019b). Características do anestésico alternativo de erva cidreira (*Lippia alba*) e alecrim pimenta (*Lippia sidoides*) em peixes. *Revisão / Rev.* <https://doi.org/https://doi.org/10.26605/medvet-v13n3-3304>
- VENTURA, A. S., CORREIA-FILHO, R. A. C., TEODORO, G. C., LAICE, L. M., BARBOSA, P. T. L., STRINGHETTA, G. R., e POVH, J. A. (2020). Essential oil of *Ocimum basilicum* and Eugenol as Sedatives for Nile Tilapia. *Journal of Agricultural Studies*, 8(2), 657. <https://doi.org/10.5296/jas.v8i2.17075>
- VIDAL, L. V. O., ALBINATI, R. C. B., ALBINATI, A. C. L., LIRA, A. D., ALMEIDA, T. R., e SANTOS, G. B. (2008). Eugenol como anestésico para a tilápia-do-Nilo. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 43(8), 1069–1074. <https://doi.org/10.1590/s0100-204x2008000800017>
- VITTI, A. M. S., e BRITO, J. O. (2003). Óleo Essencial De Eucalipto. *Documentos Florestais*. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. Universidade de São Paulo, 17(0103–4715), 1–26.
- YIGIT, N. O., METIN, S., SABUNCU, O. F., DIDINEN, B. I., DIDINEN, H., OZMEN, O., e KOSKAN, O. (2022). Efficiency of *Ocimum basilicum* and *Eucalyptus globulus* essential oils on anesthesia and histopathology of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Journal of the World Aquaculture Society*, 53(5), 1051–1061. <https://doi.org/10.1111/jwas.12911>
- YOUSEFI, M., HOSEINI, S. M., VATNIKOV, Y. A., NIKISHOV, A. A., e KULIKOV, E. V. (2018). Thymol as a new anesthetic in common carp (*Cyprinus carpio*): Efficacy and physiological effects in comparison with eugenol. *Aquaculture*, 495, 376–383. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.06.022>

ANEXO A. Materiais e métodos



Figura 2. Materiais e métodos: a) Óleos essenciais de plantas; b) Materiais e equipamentos; c) Caixas plásticas para aclimação dos peixes; d) Embalagens de transporte dos peixes; e) Procedimento de aclimação dos peixes antes da soltura; f) Preparação das soluções anestésicas; g) Captura dos peixes para submeter ao procedimento anestésico; h) Monitoramento comportamental dos peixes no procedimento anestésico; i) Colocação dos peixes para banhos de imersão e j) Registo dos tempos de indução anestésica e recuperação.