



UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS
CAMPUS UNIVERSITÁRIO DE ARAGUAÍNA
ESCOLA DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SANIDADE ANIMAL E SAÚDE PÚBLICA NOS
TRÓPICOS

EDUARDO LIBANIO REIS SANTOS

**UTILIZAÇÃO DE FITOTERÁPICOS COMO REDUTORES DE ESTRESSE NO
TRANSPORTE DE TAMBAQUI (*Colossoma macropomum*)**

ARAGUAÍNA/TO

2019

EDUARDO LIBANIO REIS SANTOS

**UTILIZAÇÃO DE FITOTERÁPICOS COMO REDUTORES DE ESTRESSE NO
TRANSPORTE DE TAMBAQUI (*Colossoma macropomum*)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Sanidade Animal e Saúde Pública nos Trópicos da Universidade Federal do Tocantins como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Saúde Animal e Saúde Pública.

Orientador: Prof. Dr. Sandro Estevan Moron
Coorientador: Dr. Fabrício Pereira
Rezende

ARAGUAÍNA/TO

2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Tocantins

- S237u Santos, Eduardo Libanio Reis .
UTILIZAÇÃO DE FITOTERÁPICOS COMO REDUTORES DE ESTRESSE
NO TRANSPORTE DE TAMBAQUI (*Colossoma macropomum*). / Eduardo
Libanio Reis Santos. – Araguaína, TO, 2019.
64 f.
- Dissertação (Mestrado Acadêmico) - Universidade Federal do Tocantins
– Câmpus Universitário de Araguaína - Curso de Pós-Graduação (Mestrado)
em Sanidade Animal e Saúde Pública nos Trópicos, 2019.
- Orientador: Sandro Estevan Moron
Coorientador: Fabrício Pereira Rezende
1. Transporte. 2. Estresse. 3. Sedativos. 4. Bem-estar. I. Título
- CDD 636.089**

TODOS OS DIREITOS RESERVADOS – A reprodução total ou parcial, de qualquer forma ou por qualquer meio deste documento é autorizada desde que citada a fonte. A violação dos direitos do autor (Lei nº 9.610/98) é crime estabelecido pelo artigo 184 do Código Penal.

Elaborado pelo sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFT com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

EDUARDO LIBANIO REIS SANTOS

**UTILIZAÇÃO DE FITOTERÁPICOS COMO REDUTORES DE ESTRESSE NO
TRANSPORTE DE TAMBAQUI (*Colossoma macropomum*)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Sanidade Animal e Saúde Pública nos Trópicos da Universidade Federal do Tocantins. Foi avaliada para a obtenção do título de mestre em Sanidade Animal e Saúde Pública e aprovada em sua forma final pelo Orientador e pela Banca Examinadora.

Data da aprovação: 13/03/2019


Banca Examinadora:



Prof. Dr. Sandro Estevan Moron. Orientador, UFT



Prof. Dr. Fabiano Mendes de Cordova. Avaliador, UFT



Dr. (a). Luciana Shiotsuki. Avaliadora, EMBRAPA

ARAGUAÍNA/TO

2019

*Dedico à minha querida mãe **Dinalva Libanio***

AGRADECIMENTOS

A Deus, primeiramente, por nunca me abandonar e manter-me sempre perseverante e determinado para alcançar meus anseios.

À minha família pelo apoio, compreensão e encorajamento, minha Mãe Dinalva, minhas tias Helena, Romana, Ana, Nely e tio Antônio e os meus avós Josefa e Manoel. A meu irmão, garoto Jefferson, pelo encorajamento e aconselhamento. À minha namorada Fabiane Moreira, pelo carinho, paciência, compreensão e ajuda.

Ao meu orientador, Professor Dr. Sandro Moron, pela sabedoria e ensinamentos no direcionamento desta pesquisa. Pessoa que tenho muito respeito e satisfação em chamar, além de orientador, também de amigo.

Ao Dr. Fabrício Rezende, co-orientador desta pesquisa, por toda a sua contribuição, orientação e gentileza no decorrer desta jornada.

Aos demais docentes da universidade pelas contribuições para o enriquecimento de meus conhecimentos e, assim, formação acadêmica e profissional.

A todos os meus amigos do Laboratório de Morfofisiologia e Bioquímica de Peixes Neotropicais– UFT/Araguaína que me ajudaram durante os experimentos, sendo eles: Deivyd, Jhonas, Laiza, Felipe, Mayara, Vanessa, Tânia.

À Liana e Gilzelle, amigas e técnicas do Laboratório, por toda a ajuda e amizade adquirida ao longo dessa trajetória.

Aos amigos conquistados no curso de pós-graduação, pelos bons momentos de convivência nas aulas.

Às bancas de qualificação e defesa, Prof. Dr. Wagner Mariano e Prof. Dr. Marcelo Paulino, Prof. Dr. Fabiano Cordova e Dra. Luciana Shiotsuki, pelas considerações pertinentes para o aprimoramento desta dissertação.

À Universidade Federal do Tocantins por ter dado condições da realização desta pesquisa.

A todos aqueles que de alguma forma contribuíram para concretização desta pesquisa.

Muito obrigado!!!

“Não há diferenças fundamentais entre o homem e os animais nas suas faculdades mentais: os animais, como os homens, demonstram sentir prazer, dor, felicidade e sofrimento.”

Charles Darwin

RESUMO

O transporte é um importante procedimento na piscicultura, no qual se adicionam substâncias como sais e / ou anestésicos para amenizar o estresse e aumentar as densidades de peixes para otimização do processo. No presente estudo, avaliou-se a utilização de óleos essenciais de melaleuca e cravo ou sal adicionado na água de transporte de tambaquis em sistema fechado. Para tanto, foram realizados três experimentos. No primeiro, avaliou-se o efeito de diferentes concentrações na sobrevivência e qualidade de água de tambaqui durante a simulação de transporte e determinou-se a concentração mais apropriada para esse procedimento. No segundo e terceiro experimento avaliou-se a eficácia da concentração determinada no experimento anterior em comparação ao sal durante o transporte, utilizando os indicadores: íons plasmáticos, parâmetros hematológicos, histológicos e metabólicos. As seguintes concentrações foram adicionadas à água no primeiro experimento: 2,78, 5,56, 8,34, 11,12 mg L⁻¹ de óleo de melaleuca; 2,43, 4,86, 7,3, 9,12 mg L⁻¹ óleo de cravo, 2,60, 5,20, 7,80, 10,40 mg L⁻¹ de misto (os dois óleos combinados 1:1); 0,8% de sal + óleo de melaleuca (5,20 mg L⁻¹); óleo de cravo (4,86 mg L⁻¹) + sal 0,8%, misto (5,20 mg L⁻¹) + sal 0,8%. Cada concentração constituiu um tratamento com 5 réplicas. O grupo controle não teve a adição de aditivos. O segundo e terceiro experimento, tiveram duração de 15 e 36 h de transporte, respectivamente. A adição da concentração mista de 10,40 mg L⁻¹ de óleo de melaleuca e cravo constituiu o tratamento MEUG; 0,8% de sal adicionado constituiu o tratamento SAL. Um grupo de peixes não submetidos ao transporte constitui o grupo basal. No primeiro experimento, os tratamentos a 11,12, 9,20 e 10,40 mg L⁻¹ de óleo de melaleuca, de cravo e misto, respectivamente, proporcionaram os maiores tempos de transporte. A concentração de amônia total aumentou com o período de transporte, sendo inferior ao controle nos tratamentos óleo de melaleuca a 11,20 e no misto a 10,40 mg L⁻¹. O oxigênio dissolvido manteve-se em maiores valores nestas concentrações. A sobrevivência após a recuperação foi maior no tratamento misto a 10,40 mg L⁻¹. Esta concentração mostrou-se mais apropriada para um transporte de longa duração (até 48 h). Os resultados obtidos no segundo e terceiro experimento, mostraram que os níveis de cortisol, glicose e lactato plasmático aumentaram após o transporte, em comparação aos valores antes dos transportes. Os valores glicêmicos do tratamento MEUG foram inferiores ao do tratamento SAL, independentemente do tempo de transporte. O mesmo ocorreu para o lactato, somente no experimento de 15 h. Os níveis do glicogênio hepático foram maiores no tratamento MEUG. Não houve alterações nos íons (sódio, cloreto, potássio) independente do tratamento e do tempo de transporte. A concentração de hemoglobina aumentou no tratamento SAL, após o transporte de 15 h e 36 h. As brânquias não sofreram alterações morfofisiológicas deletérias. Com exceção do glicogênio hepático no tratamento SAL, todos os parâmetros estavam semelhantes aos basais após recuperação por 96 h. Os indicadores evidenciaram respostas primárias e secundária ao estresse, demonstrando resultados mais favoráveis para o transporte de tambaquis por 15 e 36 h com uso dos óleos essenciais combinados de melaleuca e cravo a 10,4 mg L⁻¹ como sedativos.

Palavras chaves: estresse, fitoterápicos, sedativos, bem-estar animal

ABSTRACT

Transport is an important procedure in fish farming, in which substances such as salts and / or anesthetics are added to relieve stress and increase fish densities for optimization of the process. In the present study, the use of essential oils of melaleuca and clove or salt added in the transport water of tambaquis in a closed system was evaluated. For that, three experiments were carried out. In the first, the effect of different concentrations on the survival and water quality of tambaqui during the transport simulation was evaluated and the most appropriate concentration was determined for this procedure. In the second and third experiments, the efficacy of the concentration determined in the previous experiment compared to the salt during transport was evaluated using the following indicators: plasma ions, haematological, histological and metabolic parameters. The following concentrations were added to the water in the first experiment: 2.78, 5.56, 8.34, 11.12 mg L⁻¹ melaleuca oil; 2.43, 4.86, 7.3, 9.12 mg L⁻¹ clove oil, 2.60, 5.20, 7.80, 10.40 mg L⁻¹ of mixed (the two combined oils 1 :1); 0.8% salt + melaleuca oil (5.20 mg L⁻¹); clove oil (4.86 mg L⁻¹) + 0.8% salt, mixed (5.20 mg L⁻¹) + 0.8% salt. Each concentration constituted a treatment with 5 replicates. The control group did not have the addition of additives. The second and third experiments had duration of 15 h and 36 h of transport, respectively. The addition of the mixed concentration of 10.40 mg L⁻¹ of melaleuca oil and clove was the MEUG treatment; 0.8% salt added constituted the SAL treatment. A group of fish not submitted to transport constitutes the basal group. In the first experiment, treatments at 11.12, 9.20 and 10.40 mg L⁻¹ of melaleuca, clove and mixed oil, respectively, provided the highest transport times. The total ammonia concentration increased with the transport period, being lower than the control in the oil treatments of melaleuca at 11.20 and in the mixed at 10.40 mg L⁻¹. The dissolved oxygen remained at higher values at these concentrations. Survival after recovery was greater in mixed treatment at 10.40 mg L⁻¹. This concentration proved to be more appropriate for long-term transport (up to 48 h). The results obtained in the second and third experiments showed that levels of cortisol, glucose and plasma lactate increased after transport compared to values before transport. The glycemic values of the MEUG treatment were lower than that of the SAL treatment, regardless of the transport time. The same was true for lactate, only in the 15 h experiment. Hepatic glycogen levels were higher in the MEUG treatment. There were no changes in the ions (sodium, chloride, potassium) regardless of the treatment and the transport time. The hemoglobin concentration increased in the SAL treatment, after the transport of 15 h and 36 h. The gills had no deleterious morphophysiological changes. Except for hepatic glycogen in SAL treatment, all parameters were like baseline after recovery for 96 h. The indicators showed primary and secondary responses to stress, showing more favorable results for the transport of tambaquis for 15 and 36 h with the use of essential oils combined with melaleuca and clove at 10.4 mg L⁻¹ as sedatives.

Key words: stress, phytotherapy, sedatives, animal welfare

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

CAPÍTULO 2

Figura 1. Tempo limite para o transporte (horas) de juvenis de tambaqui em diferentes densidades e concentrações dos respectivos aditivos: sal, óleo essencial de melaleuca e óleo de cravo. Letras diferentes indicam diferenças entre os tratamentos pelo teste Tukey ($p < 0,05$) 34

Figura 2. Regressão linear do tempo limite de transporte (horas) de tambaqui em função da concentração dos aditivos: óleo de melaleuca, óleo de cravo ou misto 35

CAPÍTULO 3

Figura 1. Níveis de cortisol plasmático em *Colossoma macropomum* submetidos ao transporte de 15 h (A) e 36 h (B) com adição de sal a 0,8% (SAL) ou sedativo de óleo essencial de melaleuca e cravo a 10,4 mg L⁻¹ (MEUG). * Indica diferença significativa ($p < 0,05$) em comparação ao grupo basal. Letras diferentes nas barras representam diferenças entre os tratamentos pelo teste de Tukey ($p < 0,05$) em cada tempo de amostragem: PT (Pós-transporte); 96 REC (após 96 horas de recuperação) 50

Figura 2. Glicose plasmática e lactato plasmático em *Colossoma macropomum* submetidos ao transporte de 15 h (A, C) e 36 h (B, D) com adição de sal a 0,8% (SAL) ou sedativo de óleo essencial de melaleuca e cravo a 10,4 mg L⁻¹ (MEUG). * Indica diferença significativa ($p < 0,05$) em comparação ao grupo basal. Letras diferentes nas barras representam diferenças entre os tratamentos pelo teste de Tukey ($p < 0,05$) em cada tempo de amostragem: PT (Pós-transporte); 96 REC (após 96 horas de recuperação) 51

Figura 3. Níveis plasmático do Íons sódio, cl oreto e potássio em *Colossoma macropomum* submetidos ao transporte de 15 h (A, C, E) e 36 h (B, D, F) com adição de sal a 0,8% (SAL) ou sedativo de óleo essencial de melaleuca e cravo a 10,4 mg L⁻¹ (MEUG). * Indica diferença significativa ($p < 0,05$) em comparação ao grupo basal. Letras diferentes nas barras representam diferenças entre os tratamentos pelo teste de Tukey ($p < 0,05$) em cada tempo de amostragem: PT (Pós-transporte); 96 REC (após 96 horas de recuperação) 52

Figura 4. Níveis do glicogênio hepático e muscular em *Colossoma macropomum* submetidos ao transporte de 15 h (A) e 36 h (B) com adição de sal a 0,8% (SAL) ou sedativo de óleo essencial de melaleuca e cravo a 10,4 mg L⁻¹ (MEUG). * Indica diferença significativa ($p < 0,05$) em comparação ao grupo basal. Letras diferentes nas barras representam diferenças entre os tratamentos pelo teste de Tukey ($p < 0,05$) em cada tempo de amostragem: PT (Pós-transporte); 96 REC (após 96 horas de recuperação) 53

Figura 5. Valor Médio de Alteração (VMA) em *Colossoma macropomum* submetidos ao transporte de 15 h (A) e 36 h (B) com adição de sal a 0,8% (SAL) ou sedativo de óleo essencial de melaleuca e cravo a 10,4 mg L⁻¹ (MEUG). * Indica diferença significativa ($p < 0,05$) em comparação ao grupo basal. Letras diferentes nas barras representam diferenças entre os tratamentos pelo teste de Tukey ($p < 0,05$) em cada tempo de amostragem: PT (Pós-transporte); 96 REC (após 96 horas de recuperação) 54

Figura 6. Índice de Alteração Histopatológica (IAH) em *Colossoma macropomum* submetidos ao transporte de 15 h (A) e 36 h (B) com adição de sal a 0,8% (SAL) ou sedativo de óleo essencial de melaleuca e cravo a 10,4 mg L⁻¹ (MEUG). * Indica diferença significativa ($p <$

0,05) em comparação ao grupo basal. Letras diferentes nas barras representam diferenças entre os tratamentos pelo teste de Tukey ($p < 0,05$) em cada tempo de amostragem: PT (Pós-transporte); 96 REC (após 96 horas de recuperação) 55

Figura 7. Número de células mucosas do epitélio branquial em *Colossoma macropomum* submetidos ao transporte de 15 h (A) e 36 h (B) com adição de sal a 0,8% (SAL) ou sedativo de óleo essencial de melaleuca e cravo a 10,4 mg L⁻¹ (MEUG). * Indica diferença significativa ($p < 0,05$) em comparação ao grupo basal. Letras diferentes nas barras representam diferenças entre os tratamentos pelo teste de Tukey ($p < 0,05$) em cada tempo de amostragem: PT (Pós-transporte); 96 REC (após 96 horas de recuperação) 55

Figura 8. Epitélio branquial em *Colossoma macropomum* submetidos ao transporte com sedativo ou sal. A – Grupo Basal, corte sagital do filamento primário (FP) e do filamento secundário (FS), sem alterações. B – Detalhe do filamento secundário, Célula pavimentosa (CP) e célula pilar (CPi). C – MEUG, detalhe da hipertrofia das células epiteliais (setas) do filamento primário. SAL, descolamento do epitélio do filamento (*). E – Controle, detalhe do filamento (Fi) em corte transversal, cartilagem (c), células mucosas (CM). F – Grupo melaleuca e cravo, célula mucosa (CM), muco liberado (seta). A, B, C e D: Corado em HE, E: Reativo de Schiff (PAS) e Hematoxilina; F: PAS 56

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 2

- Tabela 1. Concentrações de óleos e de sal utilizadas na simulação de transporte de tambaqui 31
- Tabela 2. Qualidade da água em sistema fechado após o procedimento de transporte de tambaquis com adição de sal, óleo essencial de melaleuca e óleo essencial de cravo 32
- Tabela 3. Regressão linear dos parâmetros de qualidade de água do transporte de tambaqui em função da concentração dos aditivos: óleo de melaleuca, óleo de cravo ou misto 35
- Tabela 4. Sobrevida de tambaquis durante a recuperação por 96 horas após ao transporte em sistema fechado com adição de aditivos: sal, óleo essencial de melaleuca e óleo de cravo ... 36

CAPÍTULO 3

- Tabela 1. Parâmetros de qualidade de água após o transporte de *Colossoma macropomum* em período de 15 h e 36 h e recuperação por 96 horas 48
- Tabela 2. Parâmetros hematológicos de tambaqui submetidos ao transporte por 15 e por 36 horas e recuperação por 96 horas. RBC = eritrócitos; Hb = hemoglobina; VCM = volume corpuscular médio; HCM = hemoglobina corpuscular média; CHCM = concentração de hemoglobina corpuscular média 49
- Tabela 3. Contagem total de trombócitos (Tb totais), de Leucócitos totais (Lc totais) e diferencial de leucócitos de juvenis de *Colossoma macropomum* submetidos ao transporte por 15 h e 36 h e recuperação por 96 horas 49
- Tabela 4. Frequência das alterações no epitélio branquial de *Colossoma macropomum* submetidos ao transporte de 15 horas e recuperação por 96 horas 53

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1

1. INTRODUÇÃO GERAL	13
2. REVISÃO DE LITERATURA	15
2.1 O transporte de peixes	15
2.2 Respostas fisiológicas de peixes ao estresse de transporte	15
2.3 Aditivos na água de transporte	17
2.3.1 Óleo de cravo	18
2.3.2 Óleo de melaleuca	18
2.3.3 Cloreto de sódio	19
2.4 Brânquias como biomarcadores histológicos	19
2.5 A espécie <i>Collossoma macropomum</i>	20
REFERÊNCIAS	20

CAPÍTULO 2 – Otimização do transporte de tambaqui com uso de óleo melaleuca associado ao óleo cravo: efeitos na qualidade da água e sobrevivência

RESUMO	29
1 INTRODUÇÃO	29
2 MATERIAL E MÉTODOS	30
3 RESULTADOS	31
4 DISCUSSÃO	36
5 CONCLUSÃO	38
REFERÊNCIAS	39

CAPÍTULO 3 – Respostas fisiológicas e histológicas de tambaqui ao estresse pós-transporte em água com anestésico de melaleuca e cravo combinados

RESUMO	42
1 INTRODUÇÃO	42
2 MATERIAL E MÉTODOS	44
3 RESULTADOS	48
4 DISCUSSÃO	57
5 CONCLUSÃO	60
REFERÊNCIAS	60

CAPÍTULO 1

1. INTRODUÇÃO GERAL

O cultivo de organismos aquáticos, conhecido como aquicultura, é um dos setores da produção animal que mais se expandiu no mundo, principalmente o cultivo de peixes (TAVARES-DIAS; MARIANO, 2015). Essa expansão está relacionada ao incremento na demanda mundial por pescado nas últimas décadas, sobretudo, ao crescimento populacional e à busca por alimentos mais saudáveis (BRABO et al., 2016).

O Brasil se destaca no cenário da aquicultura como um dos países da América com maior potencial para a piscicultura, principalmente a dulcícola (MOREIRA et al., 2015). Possui cerca de 8.500 km de zona costeira e 5 milhões de hectares de água doce continental em reservatórios naturais e artificiais que poderiam ser aproveitados na produção de organismos aquáticos, além de áreas favoráveis para a construção de tanques e açudes (KUBTZA, 2015).

Em uma piscicultura, a rotina de manejo é composta por uma série de práticas que causam estresse durante as diferentes etapas de produção. A intensidade ou duração desses manejos provoca respostas estressoras indesejáveis, com consequente redução nas taxas de crescimento, perda de peso, imunodepressão e mortalidade (BARCELLOS et al., 2001; IWAMA et al., 2006).

As principais fontes de estresse em manejos são: captura, biometria, vacinação, indução artificial para reprodução e transporte (URBINATI et al., 2015). O transporte assume um papel fundamental, pois tem como objetivo a transferência dos peixes entre estruturas de uma piscicultura ou a outros empreendimentos, como pesque-pague, comércio de peixes ornamentais ou ao abate para consumo humano (CUPP et al., 2017).

A crescente preocupação com os efeitos do transporte tem impulsionado a busca por práticas que visam amenizar os efeitos estressores por medidas que incluem: uso de imunoestimulantes na ração, restrição alimentar antes do transporte para esvaziamento gastrointestinal, uso de aditivos (cloreto de sódio, sulfato de cálcio e anestésicos) na água do transporte e controle da densidade de peixes (BENDHACK; URBINATI, 2009; DIAS et al., 2016; FERREIRA et al., 2017; BIZARRO et al., 2018).

Os anestésicos geralmente utilizados em piscicultura são provenientes de substâncias sintéticas que provocam efeitos colaterais aos peixes como danos a córnea e brânquias e, além disso, deixam resíduos no ambiente (ROUBACH; GOMES, 2001). Com isso, o uso de

anestésicos fitoterápicos vem ganhando espaço por reduzirem os efeitos estressores, serem ambientalmente seguros, com mínimos efeitos colaterais e contribuir para o bem-estar dos peixes (SOARES; TAVARES-DIAS, 2013).

Boas práticas de manejo, como a utilização de sedativos, são de aplicabilidade simples e eficazes para garantir o bem-estar dos animais e intensificar a produtividade na piscicultura. Para tanto, é preciso compreender e mitigar os fatores estressores relacionados ao manuseio e transporte que prejudicam a condição geral dos peixes e podem provocar mortalidade durante e após o procedimento, resultando em perdas financeiras (GOES et al., 2017).

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 O transporte de peixes

Nas pisciculturas o transporte de peixes vivos é uma atividade corriqueira. No entanto, é certamente um dos principais problemas que afeta a homeostase dos peixes nas condições de criação em cativeiro (INOUE et al., 2005). É uma prática traumática, pois além do deslocamento em si, também envolve a captura inicial nos tanques, a manipulação e o armazenamento dos indivíduos até a liberação (GOMES et al., 2003).

Existem dois manejos de transporte de peixes que são mais usuais: o sistema aberto e o sistema fechado. No sistema aberto, os peixes são transportados dentro de caixas de polietileno contendo água e fornecimento contínuo de O₂ por meio de compressores de ar ou cilindros de ar comprimido durante todo o período do transporte (SAMPAIO; FREIRE, 2016). No sistema fechado, os peixes são transportados em saco de plástico (recipiente hermeticamente fechado) e todos os requisitos para sua sobrevivência são autocontidos (GONSALVES et al., 2010). Neste caso, a água é adicionada, o peixe depurado é acondicionado em seguida, o ar comprimido é injetado e o recipiente é fechado. O saco é lacrado pode ser acondicionado em caixas de isopor ou papelão com intuito de promover uma maior proteção contra danos mecânicos, bem como uma maior facilidade no manuseio e isolamento térmico dos sacos (BALDISSEROTTO; GOMES, 2010).

O transporte em sistema fechado é o mais comum, principalmente o transporte de peixes alevinos e juvenis, por que reduz substancialmente o volume e o peso total do transporte da água, permite que seja possível prolongar o tempo de transporte e é economicamente vantajoso (BERKA, 1986). Contudo, a duração, a densidade de carga e as mudanças bruscas nos parâmetros físicos e químicos da água são alguns entraves que dificultam a eficiência de tal procedimento (OLIVEIRA et al., 2009). Deste modo, a garantia de sucesso na prática, seria o ajuste entre a maior densidade de peixes e o menor volume de água possível, sem causa de estresse, deterioração da qualidade da água e mortalidade (LUZ et al., 2013; MOREIRA; FARIAS, 2015).

2.2 Respostas fisiológicas de peixes ao estresse de transporte

O estresse pode ser definido como uma perturbação intrínseca ou extrínseca a um determinado organismo, causando um desequilíbrio no seu equilíbrio fisiológico dinâmico (BARTON, 2002). Os peixes, frente a um agente estressor, têm a capacidade natural de responder fisiologicamente. Entretanto, a resposta fisiológica ao fator estressor pode ser

deletéria à saúde desses animais, quando os mecanismos de resposta são forçados além de seus limites normais (BARTON; IWAMA, 1991).

O transporte de peixes, caracteriza-se como múltiplos estímulos adversos que induzem respostas de estresse, com consequências negativas sobre o desempenho produtivo, resposta imune e suscetibilidade dos peixes a doenças (BARTON, 2002; BRANDÃO et al., 2006).

Estas respostas fisiológicas ao estresse podem ser classificadas como primárias, secundárias e terciárias (IWAMA et al., 2006). As respostas primárias são neuroendócrinas, envolvem detecção neuronal de mudanças ambientais. Essas respostas neuroendócrinas incluem a liberação rápida de adrenalina, estimulação do sistema celular hipotálamo-hipófise-inter-renal no rim cefálico, culminando na liberação de cortisol no sangue do animal (ADAMANTE et al., 2008). As catecolaminas são liberadas do tecido cromafim no rim cefálico dos peixes e também dos neurônios adrenérgicos, e o cortisol é liberado pelas células do tecido intra-renal, também localizadas no rim cefálico. O principal componente do tecido intra-renal estimulante da hipófise é o hormônio adrenocorticotrófico (ACTH), que também estimula a liberação de adrenalina (IWAMA et al., 2006). O cortisol, por sua vez, mobiliza reservas de energia para manter o fornecimento de oxigênio e energia para a regulação osmótica (GEORGE et al., 2013). Esse hormônio, portanto, é um dos indicadores primários mais utilizado para a caracterização do estresse em peixes (ELLIS et al., 2012).

As respostas secundárias são os efeitos mediados pelos hormônios liberados durante a resposta primária. Incluem alterações na glicemia, no ácido láctico, hematologia, concentrações de íons e permeabilidade das brânquias (OBA et al., 2009). O indicador de resposta secundária mais comumente analisada ao estresse do transporte em peixes é a glicemia (SAMPAIO; FREIRE, 2016). A hiperglicemia é mediada principalmente pelo efeito da indução exercida pelas catecolaminas sobre a liberação de glicose do fígado, sendo a glicogenólise o principal processo de liberação de glicose para o plasma (ADAMANTE et al., 2008). Deste modo, a determinação dos níveis do glicogênio hepático, após eventos estressantes como o transporte, é usualmente realizada como complemento na avaliação da resposta secundária ao estresse (SALBEGO et al., 2017). Além da elevação de glicose na corrente sanguínea, o aumento da concentração de lactato decorrente do metabolismo anaeróbico, também é uma resposta secundária ao estresse (LI et al., 2009). O lactato é gerado pela fermentação anaeróbica da glicose quando o oxigênio não supre a demanda metabólica do organismo (HOCHACHKA; LUTZ, 2001).

Alterações hematológicas são outros exemplos de indicadores secundários de estresse (SAMPAIO; FREIRE, 2016). Essas alterações ocorrem geralmente para fornecer mais oxigênio em função do aumento da atividade metabólica em condições estressantes (WOJTASZEK et al., 2002). Nesse sentido, as análises hematológicas são utilizadas frequentemente na avaliação do estado de saúde de peixes na aquicultura (FAZIO, 2019), sendo uma ferramenta integrante para quantificação do estresse ocasionado por práticas de manejo, como o transporte (CHAGAS et al., 2012; HARDI et al., 2015).

Respostas terciárias são o resultado do estresse crônico que leva à exaustão fisiológica e pode ter consequências a longo prazo, afetando negativamente a função imunológica do teleosteo, a locomoção / natação, o metabolismo, a reprodução, a taxa de crescimento, o comportamento e a sobrevivência (KVAMME et al., 2013). A limitação da capacidade do animal de tolerar estressores subsequentes ou adicionais também é atribuída a uma manifestação da resposta terciária (LIMA et al., 2006).

O conhecimento das respostas de estresse em operações de transporte de peixes é primordial para o estabelecimento de práticas de manejo adequadas, principalmente aquelas que reduzam a mortalidade dos peixes pós-transporte (SINK; NEAL, 2009).

2.3 Aditivos na água de transporte

Para atenuar os efeitos estressores durante e após o transporte, o cloreto de sódio é muito recomendado, no entanto, a utilização de anestésicos tem se destacado, pois em dosagens específicas podem desacelerar o metabolismo e diminuir a atividade física dos peixes (HARMON, 2009; SOUZA et al., 2012), resultando em um menor consumo de oxigênio, menor produção de compostos nitrogenados e menos atrito entre os animais (FINSTAD et al., 2003). Fato este relevante para o transporte em sistema fechado, onde a ausência de suprimento de oxigênio não é constante (BERKA, 1986).

Entretanto, o uso de anestésico deve ser criterioso, pois concentrações inadequadas associadas ao tempo de exposição prolongado trazem riscos aos peixes, como: danos branquiais, perda de muco, deficiências respiratórias ou mortalidade por superdosagem (PARK et al., 2008). A tricafina-metanossulfonato (MS222) e a benzocaína, dentre outros, são anestésicos sintéticos extensivamente empregados (GOMES et al., 2001; KIESSLING et al., 2009) que apresentam desvantagens ao causar danos deletérios aos peixes (PARODI et al., 2014). A fim de superar esses entraves, atenção vem sendo dada aos anestésicos naturais devido à preocupação com aqueles de origem sintética pelos seus efeitos adversos ao animal (INOUE et al., 2003).

2.3.1 Óleo de cravo

O óleo de cravo, cujo componente majoritário é o eugenol (4-alil-2metoxifenol), é um produto natural extraído, por destilação de caules, folhas e flores do cravo da Índia, *Syzygium aromaticum* (SOUZA et al., 2015). Características como o baixo custo, baixa toxicidade para humanos e animais, tornam o óleo de cravo um anestésico promissor para aquicultura (FERNANDES et al., 2017)

Este fitofármaco pode agir como um depressor do sistema nervoso central (SNC) de peixes, atuando como anestésico e analgésico (ROSS; ROSS, 2008) e que pode ser metabolizado e excretado rapidamente do organismo do animal, não requerendo tempo de carência (WAGNER et al., 2003), um fato positivo para uso em peixes destinados ao abate. Por isso vem sendo recomendado como preventivo ao estresse (SAINI et al., 2018).

Na maioria dos estudos que empregam o óleo de cravo, têm sido utilizadas altas concentrações, que resultam em uma rápida sedação profunda, perda de equilíbrio e perda de reflexo (MITJANA et al, 2014; CUNHA et al., 2015). Altas concentrações de anestésico para uma rápida sedação profunda são ideais para procedimentos invasivos, como cirurgias (SIMÕES et al., 2012). No entanto, há casos que uma sedação leve é suficiente e mais desejável que uma sedação profunda para facilitar a movimentação dos peixes, como no caso do transporte (BECKER et al., 2012).

2.3.2 Óleo de melaleuca

O gênero *Melaleuca*, pertencente à família Myrtaceae, inclui aproximadamente 100 espécies nativas da Austrália e Ilhas do Oceano Índico. De acordo com Oliveira e colaboradores (2011) a *Melaleuca alternifolia* é comumente conhecida na Austrália como “árvore de chá”, florescendo principalmente em áreas de pântano, próximas de rios.

O principal produto dessa planta é o óleo essencial (TTO - *tea tree oil*), de grande importância medicinal por possuir comprovada ação bactericida e antifúngica contra diversos patógenos humanos, sendo utilizado em formulações tópicas (OLIVEIRA et al., 2011). O óleo é obtido por meio da destilação a vapor das folhas e ramos terminais de *M. alternifolia* (GUSTAFSON et al., 1998). Este óleo é composto principalmente de terpinen-4-ol, γ -terpineno, α terpineno, 1,8-cineol e outras moléculas (CARSON et al., 2006).

O TTO apresenta diversas aplicações do ponto de vista fitoterapêutico. Possui amplo espectro de ação antibacteriana, como efeito bactericida *in natura* e bacteriostático em baixas

concentrações (KWIECINSKI et al., 2008), antifúngico (OLIVA et al., 2003) e antiviral (MINAMI et al., 2003).

A utilização do TTO tem sido pouco explorada na aquicultura. Mas tendo vista sua ampla aplicação medicinal, foi estudada sua propriedade anestésica em carpas (*Cyprinus carpio*) e apresentou ótimos tempos de anestesia e recuperação na espécie (HAJEK, 2011). Em peixes palhaços (*Amphiprion clarkii*) também foi reportado como um anestésico eficaz para procedimentos recorrentes como biometria entre outros (CORREIA et al., 2018). Em tilápias do Nilo, assim como o óleo de cravo, o óleo de melaleuca foi eficiente em anestésiar e promover rápidos tempos de recuperação (REZENDE et al., 2017). Há poucos relatos sobre o uso deste óleo para manejos de transporte de peixes, o que realça ainda mais a necessidade de estudos desse cunho.

2.3.3 Cloreto de Sódio

A utilização do cloreto de sódio como redutor de estresse é amplamente difundida na aquicultura para igualar o gradiente osmótico entre a água e o plasma do peixe, fazendo com que haja uma redução na difusão de íons para a água (ALMEIDA et al., 2016). Esse produto também estimula a secreção de muco sobre o epitélio branquial, recobrando lesões provenientes dos manejos e dificultando a passagem de íons através das membranas celulares, desse modo colabora com a manutenção da homeostase (WURTS, 1995).

O transporte provoca aumento da demanda energética nos peixes que já se encontram debilitados pelos manejos anteriores de captura e acondicionamento nas unidades de transporte (SERRA et al., 2011). Desse modo, a utilização do sal muitas vezes se torna necessária pois sua adição reduz o custo energético do organismo com os processos osmorregulatórios (GOMES et al., 2003). Além disso, o sal também tem efeito profilático, é de fácil obtenção e baixo custo, com eficácia comprovada para algumas espécies (TACCHI et al., 2015; NAVARRO et al., 2017; BIZARRO et al., 2018).

2.4 Brânquias como biomarcadores histológicos

Os estudos histológicos são importantes para se verificar a sensibilidade de órgãos às substâncias tóxicas, o grau das lesões está diretamente relacionado com seu potencial patológico, logo, a forma como a lesão afeta a função do órgão e a capacidade de sobrevivência do animal é levada em consideração quando se trata de importância das lesões (BERNET et al., 1999), principalmente quando se refere às brânquias, órgão responsável

pelas trocas gasosas, osmorregulação, excreção de compostos nitrogenados, ácidos e sais (MACHADO, 1999).

Entre os tipos de alterações morfológicas comumente observadas em estudos de toxicidade nas brânquias estão os edemas, hiperplasia epitelial das lamelas secundárias, infiltração de células epiteliais, fusão lamelar, proliferação entre outras (FLORES-LOPES; THOMAZ; 2011).

O muco, secretado pelas células mucosas, na superfície das brânquias tem sido considerado uma importante proteção contra lesões abrasivas por materiais sólidos suspensos em água e por agentes tóxicos (MORON et al., 2018). Em contato com as partículas sólidas, as secreções mucosas tendem a aumentar (COELLO; KHAN, 1996), logo, mudanças na densidade dessas células refletem alterações na quantidade de muco produzida.

A exposição de peixes a concentrações elevadas de óleos naturais, como o cravo pode promover algumas alterações no epitélio branquial. Alterações como congestão e descamação epitelial foram observadas nas brânquias de *Danio rerio* após banhos com óleo de cravo a 100 ppm após a anestesia (UMALI et al., 2011). Em *Betta splendens*, análises histopatológicas das brânquias demonstraram, que a exposição por um tempo prolongado de 48 horas a 40 ppm do óleo de cravo também promovem alterações, como edema do epitélio de lamelas secundárias, hiperplasia de células epiteliais, elevação epitelial e fusão parcial de lamelas secundárias (WARISTHA et al., 2011).

2.3 A espécie *Collossoma macropomum*

Collossoma macropomum Cuvier 1818, é uma espécie neotropical, também conhecida por tambaqui em diversas regiões do Brasil, pertence à ordem Characiformes e à família Characidae (LEITÃO; FAVACHO, 2015). O tambaqui é um peixe de clima tropical, sendo o maior Characiformes da região Amazônica podendo chegar a 30 kg e até 1 m de comprimento (ARAÚJO-LIMA; GOULDING, 1998). Em termos socioeconômicos e ecológicos, é um dos teleósteos mais importantes presente nas bacias da Amazônia (WOOD et al., 2017).

C. macropomum é uma das mais apreciadas no estado do Amazonas alcançando grande valor comercial (RUFFINO et al., 2005) devido ao teor nutricional de sua carne (VAL et al., 2000). O crescimento na sua produção é bastante expressivo e se deve às suas características zootécnicas e adaptabilidade, destacando-se sua rusticidade, seu hábito alimentar onívoro-filtrador e seu grande porte, características que possibilitam, quando bem manejado, rápido ganho de peso (FILHO et al., 2016).

A criação do tambaqui, segundo Dairiki e Silva (2011), é dividida basicamente em três fases: a larvicultura, a produção de juvenis e a engorda. Na larvicultura, os peixes são criados da eclosão até o peso médio individual (PMI) de 0,5 a 1 g durante 30 a 45 dias; a produção de juvenis, que é a próxima etapa, dura cerca de 60 dias, e o PMI dos peixes fica entre 40 g e 50 g. Por fim, na engorda, o tempo é variável, pois depende do peso de abate. Muitos pesquisadores e produtores têm intensificado esforços para estabelecer um pacote tecnológico para a criação da espécie (TAVARES-DIAS et al., 2013).

O transporte é uma atividade que envolve riscos, sendo necessários todos os cuidados possíveis para se evitar estresse excessivo e injúrias que resultarão em prejuízos ou até mesmo em mortalidade de tambaquis (GOMES et al., 2006).

REFERÊNCIAS

- ADAMANTE, W. B.; NUÑER, A. P. O.; BARCELLOS, L. J. G.; SOSO, A. B.; FINCO, J. A. Stress in *Salminus brasiliensis* fingerlings due to different densities and times of transportation. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 60, n. 3, p. 755-761, 2008.
- ALMEIDA, E. M.; MACHADO, A. S.; RIOS, A. D. F. Efeito do transporte em peixes. **Nutritime revista eletrônica**, v. 13, n.4, p.4764-4772, 2016.
- ARAÚJO-LIMA, C. A. R. M.; GOULDING, M. **Os frutos do tambaqui: ecologia, conservação e cultivo na Amazônia**. Tefé-AM, Sociedade Civil Mamirauá, Brasília: CNPq, 1998, 186p.
- BALDISSEROTTO, B., GOMES, L. C. **Espécies nativas para piscicultura no Brasil**. 2. ed. Ver. E ampl., Santa Maria: Ed. Da UFSM, 2010. 608 p.
- BARCELLOS, L.J.G.; WOEHL, V.M.; WASSERMANN, G.F.; QUEVEDO, R.M.; ITTZÉS, I.; KRIEGER, M.H. Plasma levels of cortisol and glucose in response to capture and tank transference in *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard), a South American catfish. **Aquaculture Research**, v. 32, p. 121-123, 2001.
- BARTON, B.A. Stress in fishes: a diversity of responses with reference to changes in circulating corticosteroids. **Integrative and Comparative Biology**, v. 42, p. 517–525, 2002.
- BARTON, B.A.; IWANA, G.K. Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of corticosteroids. **Annual Review of Fish Diseases**, v.10, p.03-26, 1991.
- BECKER, A.G., PARODI, T.V., HELDWEIN, C.G., ZEPPEFELD, C.C., HEINZMANN, B.M. and BALDISSEROTTO, B. Transportation of silver catfish *Rhamdia quelen*, in water

with eugenol and the essential oil of *Lippia alba*. **Fish Physiology and Biochemistry**, vol. 38, no. 3, p. 789-796, 2012.

BENDHACK, F.; URBINATI, E.C. Mitigating stress effects during transportation of matrinxã (*Brycon amazonicus* Günther, 1869; Characidae) through the application of calcium sulfate. **Journal of Applied Ichthyology**, v. 25, p. 201-205, 2009.

BERKA, R. **The transport of live fish: a review**. EIFAC Technical Papers, FAO, v. 48, 1986, 57p.

BERNET, D. H.; SCHMIDT, W.; MEIER, P.; BURKHARDT-HOLM, T.; WAHLI. Histopathology in fish: proposal for a protocolo assess aquatic pollution. **Journal of Fish Disease**, v. 22, p. 25-34, 1999.

BIZARRO, Y. W. S.; NAVARRO, F. K. S. P.; NAVARRO, R. D. Concentrações de óleo de cravo, benzocaína e cloreto de sódio durante a simulação de transporte de Tilápia do Nilo. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 13, n. 1, p. 106-111, 2018.

BRABO, M. F.; PEREIRA, L. F. S.; SANTANA, J. V. M.; CAMPELO, D. A. V.; VERAS, G. C. Cenário atual da produção de pescado no mundo, no Brasil e no estado do Pará: ênfase na aquicultura. **Acta of Fisheries and Aquatic Resources**, v. 4, n. 2, 50-58, 2016.

BRANDÃO, F. R.; GOMES, L. C.; CHAGAS, E. C. Respostas de estresse em pirarucu (*Arapaima gigas*) durante práticas de rotina em piscicultura. **Acta Amazonica**, v. 36, p. 349-356, 2006.

CARSON, C.F.; HAMMER, K.A.; RILEY, T.V. *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil: a review of antimicrobial and other medicinal properties. **Clinical Microbiology Reviews**, v.19, n.1, p. 50-62, 2006.

CHAGAS, E. C.; ARAÚJO, L. D.; BOJINK, C. H.; INOUE, L. A.; GOMES, L. C.; MORAES, F. R. Respostas de tambaquis ao estresse por transporte após alimentação com dietas suplementadas com β -glucano. **Biotemas**, v. 25, p. 221-227, 2012.

COELLO, W. F.; KHAN, M. A. Q. Protection against heavy metal toxicity by mucus and scales in fish. **Archives of environmental contamination and toxicology**, v. 30, n. 3, p. 319-326, 1996.

CORREIA A. M.; PEDRAZZANI A. S.; MENDONÇA R. C.; MASSUCATTO A.; OZÓRIO R. A.; TSUZUKI M. Y. Basil, tea tree and clove essential oils as analgesics and anaesthetics in *Amphiprion clarkii* (Bennett, 1830). **Brazilian Journal of Biology**, v. 78, n. 3, p. 436-442, 2018.

CUPP, A. R.; SCHREIER, T. M.; SCHLEIS, S. M. Live transport of Yellow Perch and Nile Tilapia in AQUIS 20E (10% Eugenol) at high loading densities. **North American Journal of Aquaculture**, v. 79, p. 176-182, 2017.

CUNHA, L.; GERALDO, A. M. R.; SILVA, V. C.; CARDOSO, M.; TAMAJUSUKU, A. S. K.; HOSHIBA, M. A. Clove oil as anesthetic for guppy. **Boletim do instituto de pesca**, v. 41, p. 729-735, 2015.

DAIRIKI, J.K.; SILVA, T.B.A. **Revisão de literatura:** exigências nutricionais do tambaqui - compilação de trabalhos, formulação de ração adequada e desafios futuros. Manaus: Embrapa Amazônia Ocidental, 2011. 44p.

DIAS, J. A. R.; ABE, H. A.; N. C.; RAMOS, F. M.; CORDEIRO, C. A. M.; FUJIMOTO, R. Y. Uso do sal comum (nacl) e densidade de estocagem durante a larvicultura de *Betta splendens*. **Boletim do instituto de pesca**, v. 42, n. 3, p. 719-726, 2016.

ELLIS, T.; YILDIZ, H. Y.; LÓPEZ-OLMEDA, J.; SPEDICATO, M. T.; TORT, L., ØVERLI, Ø.; MARTINS, C. I. Cortisol and finfish welfare. **Fish physiology and biochemistry**, v. 38, n. 1, p. 163-188, 2012.

FAZIO, F. Fish hematology analysis as an important tool of aquaculture: A review. **Aquaculture**, v. 500, p. 237-242, 2019.

FERREIRA, P. D. M. F.; ROCHA, J. S.; GOMES, J. R.; CALDAS, D. W.; MARTINS, M. T. S.; OLIVEIRA, J. M.; ZUANON, J. A. S. Curcuma longa supplementation in the diet of *Astyanax aff. bimaculatus* in preparation for transport. **Aquaculture Research**, v. 48, n. 8, p. 4524-4532, 2017.

FERNANDES, I. M.; BASTOS, Y. F.; BARRETO, D. S.; LOURENÇO, L. S.; PENHA, J. M. The efficacy of clove oil as an anaesthetic and in euthanasia procedure for small sized tropical fishes. **Brazilian Journal of Biology**, vol. 77, n. 3, p. 444-450, 2017.

FILHO, M. X. P.; RODRIGUES, A. P. O.; REZENDE, F. P. Dinâmica da produção de tambaqui e demais peixes redondos no Brasil. **Boletim Ativos da Aquicultura**, ano 2, ed. 7, p.1-5, 2016.

FINSTAD, B.; IVERSEN, M.; SANDODDEN, R. Stress-reducing methods for releases of Atlantic salmon (*Salmo salar*) smolts in Norway. **Aquaculture**, v. 222, p. 203-214, 2003.

FLORES-LOPES, F.; THOMAZ, A. T. Histopathologic alterations observed in fish gills as a tool in environmental monitoring. **Brazilian Journal of Biology**, v. 71, n. 1, p. 179-188, 2011.

GEORGE, N.; PETER, V. S.; PETER, M. C. S. Physiologic implications of inter-hormonal interference in fish: lessons from the interaction of adrenaline with cortisol and thyroid

hormones in climbing perch (*Anabas testudineus*). **General and Comparative Endocrinology**, v. 181, p. 122–129, 2013.

GOES, G. A.; OLIVA, R. A.; RONQUI, R. G.; QUEIROZ, T. R.; SATOLO, E. G. Descrição do sistema logístico de transporte: uma análise conceitual envolvendo piscicultura. **South American Development Society Journal**, v. 1, n. 2, p. 100-115, 2017.

GOMES, L. C.; CHIPARI-GOMES, A. R.; LOPES, N. P.; ROUBACH, R.; ARAÚJO-LIMA, C. A. R. M. Efficacy of benzocaine as anesthetic for tambaqui juveniles (*Colossoma macropomum*). **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 31, p. 426–431, 2001.

GOMES, L. C.; ARAÚJO-LIMA, C. A. R. M.; ROUBACH, R.; URBINATI, E. C. Avaliação dos efeitos da adição de sal e da densidade no transporte de tambaqui. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** v.38, n.2, p. 110-116, 2003.

GOMES, L. C., ARAUJO-LIMA, C. A. R. M., CHIPARI-GOMES, A. R., & ROUBACH, R. Transportation of juvenile tambaqui (*Colossoma macropomum*) in a closed system. **Brazilian Journal of Biology**, v. 66, n. 2, p. 493-502, 2006.

GUSTAFSON, J. E.; LIEW, Y. C.; CHEW, S.; MARKHAM, J. L.; BELL, H. C.; WYLLIE, S.G.; WARMINGTON, J. R. Effects of tea tree oil on *Escherichia coli*. **Letters in Applied Microbiology**, v. 26, p. 194-198, 1998.

HAJEK, G. J. The anaesthetic-like effect of tea tree oil in common carp (*Cyprinus carpio*) L. **Aquaculture Research**, v.42, p. 296-300, 2011.

HARDI, E. H.; ASMIR, A.; PEBRIANTO, C. A.; SAPTIANI, G.; AGUSTINA, A. Effect of Fish Transportation on immunological response and Bacterial Diseases in *Anabas Testudineus* Fish. **Aquacultura Indonesiana**, v. 16, n. 2, p. 73-77, 2015.

HARMON, S. Methods for reducing stressors and maintaining water quality associated with live fish transport in tanks: a review of the basics. **Reviews in Aquaculture**, v. 1, n. 1, p. 58-66, 2009.

HOCHACHKA, P. W.; LUTZ, P. L. Mechanisms, origin and evolution of anoxia tolerance in animals. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 130 (B), p. 435-459, 2001.

INOUE, L. A. K. A.; NETO, C. S.; MORAES, G. Clove oil as anaesthetic for juveniles of matrinxã *Brycon cephalus* (Günther, 1869). **Ciência Rural**, v. 33, p. 943-947, 2003.

INOUE, L. A. K. A., AFONSO, L. O. B., IWAMA, G. K., & MORAES, G. Effects of clove oil on the stress response of matrinxã (*Brycon cephalus*) subjected to transport. **Acta Amazonica**, v.35, n.2, p. 289-295, 2005.

IWAMA, G.K., AFONSO, L.O.B. VIJAYAN, M.M. Stress in fishes. In: EVANS, D.H.; CLAIBORNE, J.B. **The Physiology of Fishes**. Boca Raton: CRC Press, 2006, 319–342.

KIESSLING A.; JOHANSSON D.; ZAHL, I. H.; SAMUELSEN, O. B. Pharmacokinetics, plasma cortisol and effectiveness of benzocaine, MS-222 and isoeugenol measured in individual dorsal aorta-cannulated Atlantic salmon (*Salmo salar*) following bath administration. **Aquaculture**, v. 286, p. 301-308, 2009.

KVAMME, B.O.; GADAN, K.; FINNE-FRIDELL, F. et al. Modulation of innate immune responses in Atlantic salmon by chronic hypoxia-induced stress. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 34, p. 55-65, 2013.

KUBTIZA, F. Aquicultura no Brasil: Principais espécies, áreas de cultivo, rações, fatores limitantes e desafios. **Panorama da aquicultura**, v. 25, n. 150, p. 10-23, 2015.

LEITÃO, B. R. G. S.; FAVACHO, M. C. Elaboração e avaliação nutricional da farinha da pele do tambaqui (*colossoma macropomum*) e utilização em produtos alimentícios. **Nexus-Revista de Extensão do IFAM**, v. 1, n. 2, 2015.

LI, P.; RAY, B.; GATLIN, D. M.; SINK, T.; CHEN, R.; LOCHMANN, R. Effect of handling and transport on cortisol response and nutrient mobilization of golden shiner, *Notemigonus crysoleucas*. **Journal of the World Aquaculture Society**, v.40, n. 6, p. 803-809, 2009.

LIMA, L. C.; RIBEIRO, L. P.; LEITE, R. C.; MELO, D. C. Estresse em peixes. **Revista Brasileira Reprodução Animal**, v.30, p. 113-117, 2006.

LUZ, R. K.; COSTA, L. S. Ribeiro, P. A. P.; SILVA, R. F.; ROSA, P. V. Influência do tempo de transporte para juvenis de pacamã (*Lophiosilurus alexandri*). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 65, n. 6, p. 1895-1898, 2013.

MACHADO, M. R. Uso de brânquias de peixes como indicadores de qualidade das águas. **Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 1, n. 1, p. 63-76, 1999.

MINAMI, M.; KITA, M.; NAKAYA, T.; YAMAMOTO, T.; KURIYAMA, H.; IMANISHI, J. The inhibitory effect of essential oils on herpes simplex virus type-1 replication in vitro. **Microbiology and Immunology**, v.47, p. 681-684, 2003.

MITJANA, O., BONASTRE, C., INSUA, D., FALCETO, MV, ESTEBAN, J., JOSA, A., ESPINOSA, E. A eficácia e o efeito da exposição repetida ao 2-fenoxietanol, óleo de cravo e metanossulfonato de triclaína como agentes anestésicos no peixe-anjo juvenil (*Pterophyllum scalare*). **Aquicultura**, v. 433, p. 491-495, 2014.

MOREIRA, A. G. L.; FARIAS, W. R. L. uso do óleo de cravo na simulação de transporte de juvenis de tilápia do nilo. **Conexões-Ciência e Tecnologia**, v. 9, n. 3, 2015.

MOREIRA, A. G.; COELHO, A. A.; ALBUQUERQUE, L. F.; MOREIRA, R. T.; FARIAS, W. R. Eugenol effect as a mitigate agent of stress in transport of Nile tilapia juveniles. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, 35(11), 893-898, 2015.

MORON, S.E.; MATOS, P.R.; RAMOS, A.T.; GOMES, M.G.T. Identification of glycoproteins in mucous cells of the gill epithelium of *Colossoma macropomum* after

exposure to organophosphate. **Brazilian Archives of Veterinary Medicine and Zootechnics**, v.70, n.3, p.837-842, 2018.

NAVARRO, D. R., COSTA, D. C., DE SOUZA E SILVA, W., CEOLIN DA SILVA, B., KENNEDY LUZ, R. Long-term transportation of juvenile pacamãs *Lophiosilurus alexandri* at different densities. **Acta Scientiarum. Technology**, v. 39, n. 2, 2017.

OBA, E. T.; MARIANO, W. S.; SANTOS, L. R. B. Estresse em peixes cultivados: agravantes e atenuantes para o manejo rentável. In: Tavares -Dias M. (Ed.), **Manejo e Sanidade de Peixes em Cultivo**. Embrapa Amapá, Macapá, 2009, p.226-247.

OLIVA, B.; PICCIRILLI, E.; CEDDIA, T.; PONTIERI, E.; AURELI, P.; & FERRINI, A. M. Antimycotic activity of *Melaleuca alternifolia* essential oil and its major components. **Letters in Applied Microbiology**, v.37, p.185-7, 2003.

OLIVEIRA, J. R.; CARMO, J. L.; OLIVEIRA, K. K. C.; SOARES, M. C. F. Sodium chloride, benzocaine and clove oil in tilapia transport water. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, n. 7, p. 1163-1169, 2009.

OLIVEIRA, A. C. M.; FONTANA, A.; NEGRINI, T. C.; NOGUEIRA, M. N. M.; BEDRAN, T. B. L.; ANDRADE, C. R.; SPOLIDORIO, D. M. P. Use of *Melaleuca alternifolia* Cheel (Myrtaceae) oil in dentistry: perspectives on its use as alternative antimicrobial to infectious diseases of oral origin. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 13, n. 4, p. 492-499, 2011.

PARODI, T. V.; CUNHA, M. A.; BECKER, A. G.; ZEPPENFELD, C. C.; MARTINS, D. I.; KOAKOSKI, G.; BARCELLOS, L. G.; HEINZMANN, B. M.; BALDISSEROTTO, B. Anesthetic activity of the essential oil of *Aloysia triphylla* and effectiveness in reducing stress during transport of albino and gray strains of silver catfish, *Rhamdia quelen*. **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 40, p. 323–334, 2014.

PARK, M. O., HUR, W. J., IM, S. Y., SEOL, D. W., LEE, J., PARK, I. S. Anaesthetic efficacy and physiological responses to clove oil-anaesthetized kelp grouper *Epinephelus bruneus*. **Aquaculture Research**, v. 39, n. 8, p. 877-884, 2008.

REZENDE, F. P.; PASCOAL, L. M.; VIANNA, R. A.; LANNA, E. A. T. Sedation of Nile tilapia with essential oils: tea tree, clove, eucalyptus, and mint oils. **Revista Caatinga**, v. 30, n. 2, p. 479-486, 2017.

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

ROUBACH, R.; GOMES, L. Uso de anestésicos durante o manejo de peixes. **Panorama da Aquicultura**, v.11, n.66, p.37-40, 2001.

RUFFINO, M.L.; LOPEZ JR, U.; SOARES, E.C.; da SILVA, O.C.; BARTHEM, R.B.; BATISTA, V.; ESTUPIÑAN, G.; ISAAC, V.; J. FONSECA, S; PINTO, W. **Estatística pesqueira do Amazonas e Pará**. Ibama; ProVárzea, 2005, p. 84.

SAINI, V. P.; KAMBLE, A. D.; OJHA, M. L.; SAINI, V. P. Anesthetic efficacy of clove oil in the transportation of carp (*Cyprinus carpio*) seed. **Journal of Entomology and Zoology Studies**, v. 6, n. 5 p. 2397-2402, 2018.

SALBEGO, J.; TONI, C.; BECKER, A. G.; ZEPPEFELD, C. C.; MENEZES, C. C.; LORO, V. L.; BALDISSEROTTO, B. Biochemical parameters of silver catfish (*Rhamdia quelen*) after transport with eugenol or essential oil of *Lippia alba* added to the water. **Brazilian Journal of Biology**, v. 77, n. 4, p. 696-702, 2017.

SAMPAIO, F. D.; FREIRE, C. A. An overview of stress physiology of fish transport: changes in water quality as a function of transport duration. **Fish and Fisheries**, v. 17, n. 4, p. 1055-1072, 2016.

SERRA, M.; WOLKERS, C.P.B; HOSHIBA, M.A.; URBINATI, E.C. Physiological responses of piau (*Leporinus friderici*, Bloch 1794) to transportation. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.40, n.12, p. 2641-2645, 2011.

SIMÕES, L. N.; GOMIDE, A. T. M.; ALMEIDA-VAL, V. M. F.; VAL, A. L.; GOMES, L. C. O uso do óleo de cravo como anestésico em juvenis avançados de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v. 34, n. 2, p. 175-181, 2012.

SINK, T. D.; NEAL, J. W. Stress response and posttransport survival of hybrid striped bass transported with or without clove oil. **North American Journal of Aquaculture**, v. 71, n. 3, p. 267-275, 2009.

SOUZA, R. A. R.; CARVALHO, C. V. A.; NUNES, F. F.; SCOPEL, B. R.; GUARIZI, J. D.; TSUZUKI, M. Y. Efeito comparativo da benzocaína, mentol e eugenol como anestésicos para juvenis de robalo peva. **Boletim do Instituto de Pesca**, v.38, n.3, p. 247-255, 2012.

SOUZA, R. L. M.; VETTORAZZI, M. B.; KOBAYASHI, R. K.; NETO, M. A. D. A. F. Eugenol como anestésico no manejo de ariacó, *Lutjanus synagris* (LINNAEUS, 1758), cultivado. **Revista Ciência Agronômica**, v. 46, n. 3, p. 532-538, 2015.

SOARES, B. V.; TAVARES-DIAS, M. Espécies de *Lippia* (Verbenaceae), seu potencial bioativo e importância na medicina veterinária e aquicultura. **Biota Amazônia**, v. 3, n. 1, p. 109-123, 2013.

TACCHI, L., LOWREY, L., MUSHARRAFIEH, R., CROSSEY, K., LARRAGOITE, E. T., SALINAS, I. Effects of transportation stress and addition of salt to transport water on the skin mucosal homeostasis of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, v. 435, p. 120-127, 2015.

TAVARES-DIAS, M.; ARAÚJO, C. S. O.; PORTO, S. M. A.; VIANA, G. M.; MONTEIRO, P. C. **Sanidade de tambaqui *Colossoma macropomum* nas fases de larvicultura e alevinagem**. Macapá: Embrapa Amapá. 2013, p 42.

TAVARES-DIAS, M; MARIANO, W. S. **Aquicultura no Brasil: novas perspectivas**. São Carlos: Editora Pedro & João, v.1, 2015, 429p.

UMALI, D. V.; OCAMPO, G. D.; OLALIA, J. L. Evaluation of the Efficacy and Safety of Ground Clove (*Eugenia aromatica*) Buds, Clove Oil and 2-Phenoxyethanol as Anesthetic Agents for Zebrafish (*Danio rerio*). **Philippine Journal of Veterinary Medicine**, v.48, n.1, p. 35-42, 2011.

URBINATI, E. C.; ZANUZZO, F. S.; SERRA, M.; WOLKERS, C. P. B.; SABIONI, R. E. Avanços da fisiologia do estresse e suas implicações em espécies nativas. In: Tavares-Dias, M. Mariano, W. S. **Aquicultura no Brasil: novas perspectivas**, São Carlos: Editora Pedro & João, v.1, 2015, p. 381-416.

VAL, A.L.; ROLIM, P. R.; RABELO, H. Situação atual da aqüicultura na região Norte. In: VALENTI, W.C. et al. **Aqüicultura no Brasil**. Brasília: CNPq, 2000, p.247-266.

WAGNER, G. N.; SINGER, T. D.; SCOTT MCKINLEY, R. The ability of clove oil and MS 222 to minimize handling stress in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture Reserch**, v. 34, p. 1139-1146, 2003.

WARISTHA, A.; KINGKAEW, W.; KUMTHORN, T. Acute Toxicity of Clove Oil and Effects on Histopathological Changes in Gill of Siamese fighting Fish *Betta splendens*. **Research Journal of Chemistry and Environment**, v.15, n.2, p.139-146, 2011.

WOOD, C. M.; DE SOUZA NETTO, J. G.; WILSON, J. M.; DUARTE, R. M.; VAL, A. L. Nitrogen metabolism in tambaqui (*Colossoma macropomum*), a neotropical model teleost: hypoxia, temperature, exercise, feeding, fasting, and high environmental ammonia. **Journal of Comparative Physiology**, v. 187, n. 1, p. 135-151, 2017.

WOJTASZEK, J.; DZIEWULSKA-SZWAJKOWSKA, D.; LOZINSKA-GABSKA, M.; ADAMOWICZ, A.; DZUGAJ, A. Hematological effects of high dose of cortisol on the carp (*Cyprinus carpio* L.): cortisol effect on the carp blood. **General and Comparative Endocrinology**, v. 125, n. 2, p. 176-183, 2002.

WURTS, W. A. Using salt to reduce handling stress in channel catfish. **World Aquaculture**, v. 26, p. 80-81, 1995.

CAPÍTULO 2

Otimização do transporte de tambaqui com uso de óleo melaleuca associado ao óleo cravo: efeitos na qualidade da água e sobrevivência

Eduardo Libanio Reis Santos^{1*}, Fabrício Pereira Rezende², Sandro Estevam Moron¹

¹ Universidade Federal do Tocantins, Araguaína, Tocantins, Brasil.

² Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), Palmas, Tocantins, Brasil.

*Correspondência: eduhlibanio@gmail.com

Resumo

Avaliou-se os efeitos da utilização do sal comum e dos sedativos óleo de cravo (eugenol) e óleo essencial de melaleuca sobre tempo de transporte de juvenis de tambaqui em sistema fechado. As seguintes concentrações foram adicionadas à água de transporte: melaleuca (2,78, 5,56, 8,44, 11,12 mg L⁻¹), cravo (2,43, 4,86, 7,30, 9,20 mg L⁻¹), misto (os dois óleos combinados 1:1: 2,60, 5,20, 7,80, 10,40 mg L⁻¹), sal a 0,8%, melaleuca (5,20 mg L⁻¹) + sal 0,8%, cravo (4,86 mg L⁻¹) + sal, misto (5,20 mg L⁻¹) + sal 0,8%. Cada concentração constituiu um tratamento. O grupo controle foi isento de aditivos. Os peixes foram colocados em sacos plásticos à densidade máxima de até 262 g L⁻¹, na sequência os sacos foram inflados com oxigênio puro e amarrados, perfazendo 5 repetições (sacos) por concentração. Os efeitos da sedação leve por tais substâncias foram avaliados no comportamento, na sobrevivência e sobre a qualidade da água. Os tratamentos a 11,12, 9,20 e 10,40 mg L⁻¹ de óleo de melaleuca, de cravo e misto, respectivamente, proporcionaram os maiores tempos de transporte. A concentração de amônia total aumentou ($p < 0,05$) com o período de transporte, sendo inferior ao controle nos tratamentos óleo de melaleuca a 11,20 e no misto a 10,40 mg L⁻¹. O oxigênio dissolvido manteve-se em maiores valores nestas concentrações. A densidade de 262 kg m³ mostrou diminuição ($p < 0,05$) do pH na água. A sobrevivência após a recuperação foi maior no tratamento misto a 10,40 mg L⁻¹. Para um transporte de tambaqui de longa duração de até 48 h a concentração de 10,40 mg L⁻¹ de óleo de cravo associada ao óleo de melaleuca foi a mais apropriada.

Palavras chave: sedativos, estresse, bem-estar, *Collossoma macropomum*

1. INTRODUÇÃO

O transporte de peixes vivos é uma prática de rotina essencial nas etapas de produção das pisciculturas (NAVARRO et al., 2017). É um manejo recorrente, na fase juvenil, realizado comumente dentro de um saco plástico, lacrado após a adição de água e oxigênio puro, designado assim de sistema fechado (GONÇALVES et al., 2010).

O sistema fechado apresenta algumas limitações que estão atreladas a densidade de carga, ao volume e a qualidade da água (MOREIRA; FARIAS, 2015). Por serem sensíveis a esses fatores, os peixes podem sofrer sérios efeitos em sua saúde com desencadeamento de diversas respostas fisiológicas que podem resultar em mortalidade (CONTE, 2004; IWAMA et al., 2006). Um transporte bem-sucedido seria alcançado a partir do ajuste entre a maior

densidade de peixes e o menor volume de água possível, com o mínimo de estresse, degradação da qualidade da água e mortalidade (LUZ et al., 2013).

Algumas práticas são recomendadas para atribuir eficiência ao procedimento de transporte. A depuração prévia dos animais é uma das primeiras medidas, seguida da adição de substâncias como sal ou anestésicos para diminuir os efeitos estressores e contribuir para o bem-estar (DINIZ; HONORATO, 2012). O jejum ameniza a excreção de metabólitos, o sal previne a perda de íons ao equilibrar o gradiente osmótico entre o meio externo e o plasma, os anestésicos são bem preconizados por abrandarem a excitação dos peixes e reduzem o consumo de oxigênio (ANJOS et al., 2011; HARMON et al., 2009).

Entretanto, a frequência com que os anestésicos sintéticos têm sido utilizados nas pisciculturas tem provocado uma série de efeitos adversos nos peixes (Z AHL et al., 2012) em virtude disso, fitoterápicos têm sido citados como alternativa, por possuírem baixa toxicidade, viabilidade econômica e eficiência no uso (MIRGHAED et al., 2016). O óleo de cravo, extraído de plantas do gênero *Eugenia* (MAZZAFERA, 2003) e o óleo de melaleuca extraído da *Melaleuca alternifolia*, enquadram-se nesses quesitos. O óleo de cravo tem como componente majoritário o eugenol (4-alil-2-metoxi-fenol), sendo o principal composto com propriedades anestésicas, as quais têm sido bem relatadas para espécies de peixes (JAVAHERY et al., 2012), já para o óleo de melaleuca são reportadas propriedades bactericida e antifúngica (OLIVEIRA et al., 2011) e recentemente anestésicas (REZENDE et al 2017).

Colossoma macropomum (Cuvier 1818) é a principal espécie de produção na região amazônica, devido ao seu grande potencial de crescimento, alta produtividade e rusticidade (MAIA et al., 2018). Portanto, objetivou-se avaliar o efeito de diferentes concentrações de óleo de cravo (eugenol), óleo de melaleuca e sal na sobrevivência e qualidade de água de tambaqui durante a simulação de transporte e determinar a concentração mais apropriada para esse procedimento.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Animais e instalações

Juvenis de tambaqui (n = 300 total, $65,3 \pm 1,4$ g, $13,6 \pm 2$ mm) adquiridos em uma piscicultura comercial, localizada no Estado do Tocantins, Brasil, e então, transferidos ao laboratório de Morfofisiologia e Bioquímica de Peixes Neotropicais da Universidade Federal do Tocantins *campus* Araguaína, TO, Brasil, foram aclimatados durante 30 dias em caixas de polietileno (1.000 L) contendo aeração constante, temperatura ($28,0 \pm 0,6$ °C) e pH ($7,0 \pm 0,4$)

controlados. A alimentação ocorreu diariamente em dois períodos (manhã e tarde) com fornecimento de ração comercial extrusada com 28% de proteína bruta *ad libitum*. A alimentação foi interrompida 24h antes da experimentação, para o esvaziamento do trato gastrointestinal, conforme reportado em AMEND et al. (1982).

2.2 Procedimentos experimentais

Os procedimentos experimentais foram aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal do Tocantins (processo n° 23.101.003678/2017-68).

A experimentação consistiu na exposição dos peixes, durante uma simulação de transporte, à aditivos a base de óleos essenciais de melaleuca (Phytoterapica®) e cravo (Biodinâmica®), ao sal comum e à água sem aditivos, contabilizando 19 tratamentos com cinco repetições cada. Cada óleo foi diluído em etanol puro (1:9) resultando em uma solução alcoólica de estoque (Vidal et al. 2008). A unidade experimental foi composta por um saco plástico transparente contendo água e solução sedativa e três peixes nas concentrações descritas abaixo (Tabela 1). As concentrações foram definidas em testes prévios.

Tabela 1. Concentrações de óleos e de sal utilizadas na simulação de transporte de tambaqui

Aditivo	Concentrações				
	0,50	1,00	1,50	2,00	-
Dose da solução pré-diluída (mL L ⁻¹)	0,50	1,00	1,50	2,00	-
Óleo de cravo ¹ (mg L ⁻¹)	2,43	4,86	7,30	9,20	-
Óleo de melaleuca ² (mg L ⁻¹)	2,78	5,56	8,34	11,12	-
Misto (mg L ⁻¹) (óleo de cravo + óleo de melaleuca, 1:1)	2,60	5,20	7,80	10,40	-
Sal (0,8%) + Óleo de cravo	-	4,86	-	-	0,8%
Sal (0,8%) + Óleo de melaleuca	-	5,56	-	-	0,8%
Sal (0,8%) + Misto	-	5,20	-	-	0,8%
Sal	-	-	-	-	0,8%
Controle (somente água), densidade 200 kg m ⁻³	-	-	-	-	-
Somente água, densidade 262 kg m ⁻³	-	-	-	-	-
Somente água, densidade 162 kg m ⁻³	-	-	-	-	-

Na simulação de transporte, um total de 285 juvenis de tambaquis foram capturados aleatoriamente e distribuídos em 95 unidades experimentais. Em seguida, os sacos foram completados com oxigênio puro, lacrados e condicionadas em caixas de papelão (KUBITZA, 2009). O transporte ocorreu em ambiente com temperatura controlada entre 26 °C e 28 °C, onde as caixas foram dispostas lado a lado e observações sobre o comportamento e o óbito foram realizados em intervalos frequentes de uma hora. O comportamento foi avaliado quanto

ao estágio de sedação dos peixes, conforme adaptações dos estágios descritos por Ross e Ross (2008) os quais os peixes tinham que atingir e permanecer no estágio de leve sedação (pouco reativo a estímulos externos, batimentos operculares lentos e equilíbrio normal).

Quando o primeiro peixe de cada saco plásticos veio a óbito, considerou-se encerrado o tempo de transporte para a concentração. O saco plástico foi aberto e a qualidade de água: temperatura, oxigênio dissolvido, pH e concentração de amônia foram avaliados através de kits específicos. Os dois peixes restantes de cada saco plástico foram transferidos para caixas de 500 L correspondente para cada tratamento, providas de fluxo contínuo e aeração de água, seguindo as análises de sobrevivência, durante um período de 96h de recuperação. Nesse período o fornecimento de ração ocorreu a partir de 24h para observar o comportamento alimentar dos peixes.

2.3 Análises estatísticas

Os dados foram analisados na seguinte maneira: a primeira considerando um experimento em DIC com 19 tratamentos e segunda considerando apenas os óleos e suas concentrações caracterizando um experimento fatorial (3x5). Na primeira análise, os dados foram submetidos à análise de variância e teste de Tukey quando os resultados da anova foram significativos ($P > 0,05$). Utilizou-se uma análise de regressão para os dados relacionados aos óleos.

3. RESULTADOS

Os valores médios dos parâmetros de qualidade da água nas unidades experimentais avaliadas por tratamento imediatamente após a simulação de transporte, com exceção da temporada, demonstram sofrer interferência conforme o tipo e a dose do tratamento utilizado (Tabela 2).

Tabela 2. Qualidade da água em sistema fechado após o procedimento de transporte de tambaquis com adição de sal, óleo essencial de melaleuca e óleo essencial de cravo

Tratamento	Dose (mg L ⁻¹)	Temperatura (°C)	Oxigênio dissolvido (mg L ⁻¹)	pH	Amônia (mg L ⁻¹)
Valor inicial		25,0 ± 0,3	8,6 ± 0,8*	7,1 ± 0,2	0,001*
Pós-transporte					
Densidade 162 kg m ⁻³	-	24,8 ± 0,3	2,8 ± 0,8bc	6,3 ± 0,1ab	0,011 ± 0,003ab
Controle (Densidade 200 kg m ⁻³)	-	25,1 ± 0,9	3,2 ± 0,8c	6,3 ± 0,2ab	0,021 ± 0,001b

Densidade 262 kg m ⁻³	-	25,1 ± 0,5	3,6 ± 1,5c	5,9 ± 0,1b*	0,018 ± 0,002ab
Óleo de melaleuca	2,78	24,9 ± 0,5	3,2 ± 0,8c	6,2 ± 0,1ab	0,012 ± 0,003ab
	5,56	24,8 ± 0,4	5,8 ± 1,8a	6,3 ± 0,1ab	0,010 ± 0,002ab
	8,34	24,7 ± 0,7	4,2 ± 1,3a	6,3 ± 0,1ab	0,010 ± 0,003ab
	11,12	24,9 ± 0,2	5,4 ± 0,9ab	6,4 ± 0,2ab	0,006 ± 0,001b
Óleo de cravo	2,43	25,2 ± 0,4	3,6 ± 0,5bc	6,3 ± 0,2ab	0,012 ± 0,003ab
	4,86	25,0 ± 0,7	3,4 ± 0,9bc	6,2 ± 0,1ab	0,010 ± 0,004ab
	7,30	24,9 ± 0,5	3,8 ± 1,5abc	6,2 ± 0,1ab	0,009 ± 0,003ab
	9,20	25,3 ± 0,4	4,2 ± 0,8abc	6,5 ± 0,2a	0,009 ± 0,003ab
Misto (1:1): óleo de cravo e óleo de melaleuca	2,60	25,0 ± 0,4	3,2 ± 0,8c	6,2 ± 0,1ab	0,011 ± 0,003ab
	5,20	24,9 ± 0,2	4,4 ± 1,1c	6,3 ± 0,2ab	0,009 ± 0,003ab
	7,80	24,8 ± 0,4	4,0 ± 0,7abc	6,4 ± 0,1ab	0,010 ± 0,004ab
	10,40	24,7 ± 0,4	4,8 ± 0,8ab	6,6 ± 0,1a	0,006 ± 0,003c
Sal	0,8%	24,7 ± 0,4	3,2 ± 0,8c	6,3 ± 0,1ab	0,011 ± 0,003ab
Sal e óleo de melaleuca	5,60	24,8 ± 0,3	3,6 ± 0,5c	6,2 ± 0,1ab	0,011 ± 0,003ab
Sal e óleo de cravo	4,80	25,1 ± 0,3	3,8 ± 0,8c	6,3 ± 0,1ab	0,012 ± 0,003ab
Sal e composto (1:1)	5,20	25,1 ± 0,2	3,8 ± 0,8c	6,3 ± 0,1ab	0,012 ± 0,002a

* Indica diferença significativa em relação ao valor inicial, letras diferentes na coluna indicam diferenças entre os tratamentos pelo teste Tukey ($p < 0,05$)

O tempo médio de transporte para cada concentração dos tratamentos está exibido a seguir (Figura 1). As doses, de óleo de melaleuca, óleo de cravo e misto (1:1) 11,12, 9,22 e 10,40 mg L⁻¹, respectivamente, proporcionaram o maior tempo de transporte quando comparado ao controle.

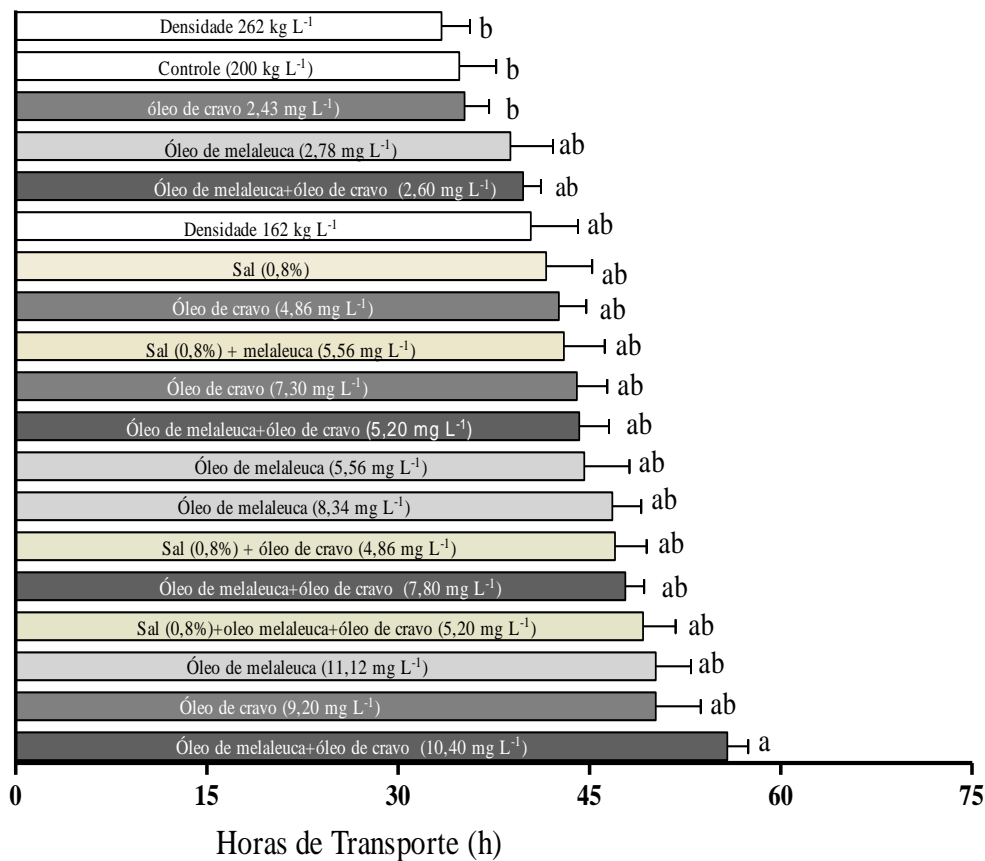


Figura 1. Tempo limite para o transporte (horas) de juvenis de tabaqui em diferentes densidades e concentrações dos respectivos aditivos: sal, óleo essencial de melaleuca e óleo de cravo. Letras diferentes indicam diferenças entre os tratamentos pelo teste Tukey ($p < 0,05$)

A análise do efeito entre as diferentes concentrações para cada tratamento de forma isolada, através de regressão linear, demonstra que o aumento na resposta para tempo de transporte, independente dos compostos: óleo de cravo, óleo de melaleuca e misto entre óleo de cravo e óleo de melaleuca seguem o mesmo padrão para todos: $y = 7,03x + 36,44$, $r^2 = 0,95$ (Figura 2).

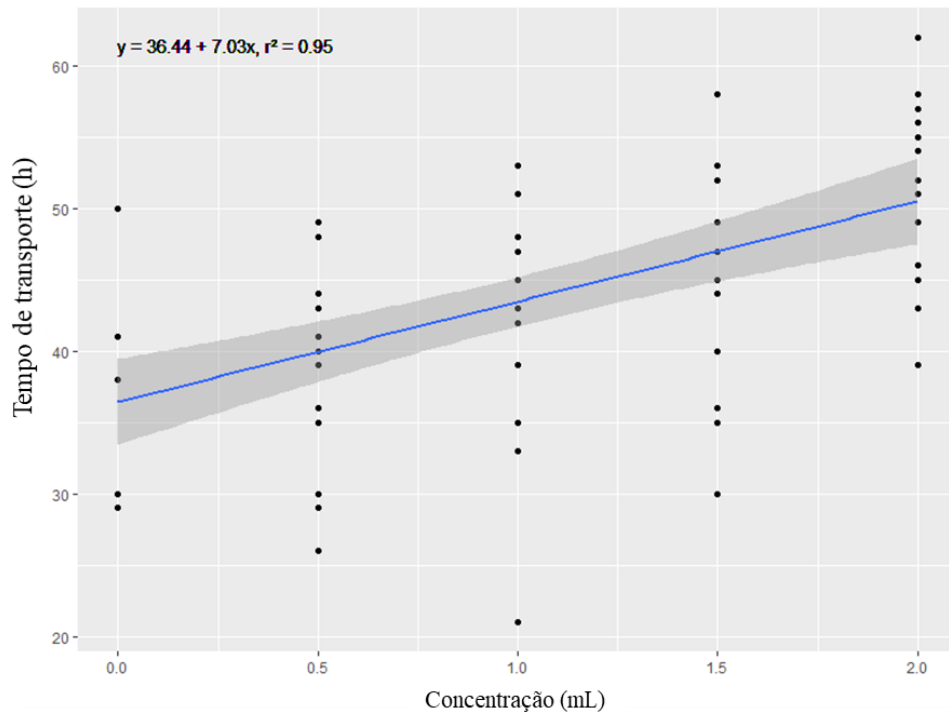


Figura 2. Regressão linear do tempo limite de transporte (horas) de tabaqui em função da concentração dos aditivos: óleo de melaleuca, óleo de cravo ou misto

O efeito nos parâmetros de qualidade da água de transporte, também foi evidenciado pelas equações de regressão linear, conforme apresentadas a seguir (tabela 3). A concentração de amônia e o pH apresentaram o mesmo padrão de equação. Para o oxigênio dissolvido, os tratamentos apresentaram equações distintas.

Tabela 3. Regressão linear dos parâmetros de qualidade de água do transporte de tabaqui em função da concentração dos aditivos: óleo de melaleuca, óleo de cravo ou misto

Tratamento	Parâmetro		
	Amônia (mg L ⁻¹)	pH	Oxigênio dissolvido (mg L ⁻¹)
Óleo de cravo			$y = 2,84 + 0,68x, r^2 = 0,49$
Óleo de melaleuca	$y = 0,017 - 0,003x, r^2 = 0,96$	$y = 6,17 + 0,16x, r^2 = 0,93$	$y = 2,92 + 1,32x, r^2 = 0,58$
Misto (óleo de melaleuca + óleo de cravo)			$y = 2,36 + 0,88x, r^2 = 0,66$

As taxas de sobrevivência registradas durante a recuperação por 96 h após os tabaquis serem submetidos a simulação de transporte estão exibidas na tabela abaixo (tabela 4).

Tabela 4. Sobrevida de tambaquis durante a recuperação por 96 horas após ao transporte em sistema fechado com adição de aditivos: sal, óleo essencial de melaleuca e óleo de cravo

Tratamento	Dose (mg L ⁻¹)	Taxa de sobrevivência (%)
Densidade 162 kg m ⁻³	-	70
Controle (Densidade 200 kg m ⁻³)	-	50
Densidade 262 kg m ⁻³	-	40
	2,78	40
Óleo de melaleuca	5,56	60
	8,34	60
	11,12	80
	2,43	40
Óleo de cravo	4,86	50
	7,30	70
	9,20	80
	2,60	40
Misto (1:1): óleo de cravo e óleo de melaleuca	5,20	60
	7,80	70
	10,40	90
Sal	0,8%	70
Sal e óleo de melaleuca	5,60	60
Sal e óleo de cravo	4,80	60
Sal e misto	5,20	70

A avaliação do comportamento alimentar denotou que os peixes do controle e densidade 262 kg m³ começaram a comer a partir de 72 h e retomaram a alimentação habitualmente somente a partir das 96 h de recuperação. O tempo de retomada para os peixes das concentrações 2,43, 2,60, 2,78, 4,86 e 5,56 mg L⁻¹ foi em torno de 72 h, enquanto os peixes expostos a concentração de 10,4 mg L⁻¹ do sedativo (misto) retomaram alimentação a partir das 48 h após o transporte, voltando ao consumo normal em 72 h.

4. DISCUSSÃO

O transporte de peixes é muito importante para a piscicultura e o monitoramento da qualidade da água é essencial para o sucesso desta operação (GARCIA et al., 2015). Além disso, adequar a densidade de carga de peixes para sistemas de transporte fechados deve considerar devidamente vários fatores, como espécie, peso individual do peixe, volume de

água, coeficiente de espaço livre, temperatura, qualidade da água e duração do transporte (KAMALAM et al., 2017).

A temperatura da água nos sacos plásticos manteve-se dentro da faixa de conforto da espécie que é de 25 °C a 30 °C (SILVA et al., 2013). Esse fato era esperado uma vez que as embalagens foram acondicionadas nas caixas de papelão e a temperatura externa foi controlada ($27,2 \pm 1,1$ °C).

A diminuição do pH, em todos os tratamentos e inclusive sendo mais expressiva na maior densidade empregada, podem ter sido ocasionadas pelo consequente aumento do dióxido de carbono devido a respiração natural dos peixes, conforme reportado por Kamalam et al. (2017). Anjos et al. (2011), avaliaram o uso de sal, gesso e óleo de cravo em um transporte de alevinos da mesma espécie por 12 h e relataram mudanças significativas nos parâmetros da água, principalmente pela redução do pH, o que corrobora com os resultados do presente estudo.

As alterações ocorridas nas concentrações de amônia em todos os tratamentos são o reflexo do tempo de confinamento dos peixes nos sacos plásticos, que tende a aumentar devido à excreção de metabólitos na água (URBINATI et al., 2004), ainda mais quando a densidade é elevada (GONSALVES et al., 2010).

O comportamento de sedação foi mantido nos tratamentos com as maiores doses dos óleos, desta forma colaborando para que as concentrações de amônia fossem inferiores nesses tratamentos. Isso elucidado, os efeitos positivos da adição dos sedativos, pois o uso desse tipo de substância visa a redução da excitação dos peixes retardando o metabolismo dos animais para que resulte em menor consumo de oxigênio e excreção de metabólitos (HARMON, 2009). Achados semelhantes, foram encontrados no transporte de tilápia do Nilo por 4 h, onde o tratamento com óleo de cravo a 15 mg L^{-1} foi eficiente em amenizar a excreção de amônia (MOREIRA; FARIAS, 2015). De modo similar, no transporte de jundiá (*Rhamdia quelen*) com mesma duração o eugenol e o óleo essencial de *Lippia alba* reduziram a excreção de amônia (BECKER et al., 2012).

Os peixes expostos às menores concentrações ou ao sal não mostraram estágio de sedação e mantiveram-se com a natação e o metabolismo mais ativos, causando maior deterioração da qualidade da água. Essas observações estão em conformidade com as realizadas por Moreira e Farias (2015) com tilápias do Nilo submetidas ao transporte com 5 e 10 mg L^{-1} de óleo de cravo.

Em relação ao tempo de transporte, o fato de as menores médias de tempo de transporte terem ocorrido no controle e na maior densidade podem ser atribuídos à ausência

de aditivos, o que deixou os peixes mais sucessíveis ao estresse em função da movimentação excessiva nos sacos, abrasão mecânica e deterioração de qualidade da água (GONÇALVES et al., 2010; MOREIRA, FARIAS, 2015). Cabe ressaltar, que apesar do menor tempo, ainda ultrapassaram a faixa de 20 h, isso pode ser um reflexo dos manejos empregados, como a depuração por 24 h e o próprio adensamento utilizado no saco plástico. Gomes et al. (2006) relataram que o sal não foi eficiente na redução do estresse do tambaqui transportados em sistemas fechados e que inclusive contribuiu para a mortalidade dos peixes por causa de disfunções osmorregulatória induzidas pelo tipo de sistema. Em contraste, nos tratamentos que tiveram a adição de aditivos, principalmente o sedativo de melaleuca e cravo combinados a 10,40 mg L⁻¹, houve maior tempo de transporte devido a eficiência do efeito sinérgico do aditivo conjuntamente ao manejo.

Durante a recuperação o comportamento alimentar foi um reflexo da amplitude do estresse gerado pelo transporte, os tambaquis expostos as maiores doses sedativas retomaram a alimentação mais rapidamente devido efeitos redutores do estresse. Em consonância Gomes et al. (2003), mencionam que peixes quando menos estressados durante a operação de transporte retomam a alimentação habitualmente nas primeiras 48 h, demonstrando assim sinais de recuperação. O tambaqui, segundo estes autores, apresentou valores de cortisol semelhantes aos valores registrados antes do transporte neste período da recuperação, indiciando o retorno da homeostase, isso possivelmente foi o que contribuiu para as diferenças no comportamento alimentar dos peixes no presente estudo.

As diferenças observadas para a sobrevivência dos tambaquis durante o período de recuperação por 96 horas, também está associada ao estresse, conforme aponta Barton (2002) o transporte atua como múltiplos estímulos adversos aos peixes que induzem respostas a esses estímulos, com consequências negativas sobre o desempenho, imunidade e suscetibilidade dos peixes a doenças e pode ter como resultado a morte. De modo análogo, Navarro et al. (2017) registraram altas taxas de mortalidade de pacamãs (*Lophiosilurus alexandri*) logo nas primeiras 24 h após um transporte de 10 h devido ao estresse gerado durante o procedimento. No presente estudo, a maior sobrevivência ocorrida para o tratamento misto a 10,40 mg⁻¹ é um indicativo de efeitos redutores de estresse, visto também pelos efeitos sobre a qualidade da água e comportamento alimentar.

5. CONCLUSÃO

O efeito sinérgico do anestésico óleo de melaleuca associado ao óleo de cravo, na concentração de 10,4 mg L⁻¹ foi evidenciado e pode ser indicado para uso no transporte de tambaqui de longa duração (até 48h) em sistema fechado.

REFERÊNCIAS

- AMEND, D. F.; CROY, T. R.; GOVEN, B. A.; JOHNSON, K. A.; MCCARTHY, D. H. Transportation of fish in closed systems: methods to control ammonia, carbon dioxide, pH, and bacterial growth. **Transactions of American Fisheries Society**, v. 111, p. 603-611, 1982.
- ANJOS, G. M.; SOARES, E. C.; DANTAS, L. H. N.; DOS SANTOS, R. B.; PINHEIRO, D. M.; ALBUQUERQUE, Á. A. Eugenol, sal e gesso no transporte de tambaqui em sistemas fechados. **PUBVET**, v. 5, n. 10, p. 1058-1064, 2011.
- BARTON, B.A. Stress in fishes: a diversity of responses with reference to changes in circulating corticosteroids. **Integrative and Comparative Biology**, v. 42, p. 517-525, 2002.
- BECKER, A. G.; PARODI, T. V.; HELWEIN, C. G.; ZEPPEFELD, C. C.; HEINZMANN, B. M.; BALDISSEROTTO, B. Transportation of silver catfish, *Rhamdia quelen*, in water with eugenol and the essential oil of *Lippia alba*. **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 38, n. 3, p. 789-796, 2012.
- CONTE, F. S. Stress and the welfare of cultured fish. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 86, n. 3-4, p. 205-223, 2004.
- COOKE, S. J.; SUSKI, C. D.; OSTRAND, K. G.; TUFTS, B. L.; WAHL, D. H. Behavioral and physiological assessment of low concentrations of clove oil anaesthetic for handling and transporting largemouth bass (*Micropterus salmoides*). **Aquaculture**, v. 239, p. 509-529, 2004.
- DIAS, M. K. R.; NEVES, L. R.; MARINHO, R. G. B.; TAVARES-DIAS, M. Parasitic infections in tambaqui from eight fish farms in Northern Brazil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 67, n. 4, p. 1070-1076, 2015.
- DINIZ, N. M.; HONORATO, C. A. Algumas alternativas para diminuir os efeitos do estresse em peixes de cultivo-revisão. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR**, v. 15, n. 2, p. 149-154, 2012.
- GARCIA, L. D. O.; BARCELLOS, L. J. G.; BALDISSEROTTO, B. Net ion fluxes and ammonia excretion during transport of *Rhamdia quelen* juveniles. **Ciência Rural**, v. 45, n. 10, p. 1854-1858, 2015.
- GONÇALVES, A. F. N.; TAKAHASHI, L. S.; URBINATI, E. C.; BILLER, J. D.; FERNANDES, J. B. K. Transporte de juvenis de curimatá *Prochilodus lineatus* em diferentes densidades. **Acta Scientiarum**, v.32, p. 205-211, 2010.
- GOMES L. C.; ARAÚJO-LIMA, C. A. R. M.; ROUBACH, R.; URBINATI, E. C. Avaliação dos efeitos da adição de sal e da densidade no transporte de tambaqui. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.38, n.2, p. 110-116, 2003.

GOMES, L. C.; ARAUJO-LIMA, C. A. R. M.; CHIPPARI-GOMES, A. R.; ROUBACH, R. Transportation of juvenile tambaqui (*Colossoma macropomum*) in a closed system. **Brazilian Journal of Biology**, v. 66, n. 2, p. 493-502, 2006.

HARMON, S. Methods for reducing stressors and maintaining water quality associated with live fish transport in tanks: a review of the basics. **Reviews in Aquaculture**, v. 1, n. 1, p. 58-66, 2009.

IWAMA, G. K.; AFONSO, L. O. B.; VIJAYAN, M. M. Stress in fishes. In: EVANS, D. H.; CLAIBORNE, J. B. **The Physiology of Fishes**. Boca Raton: CRC Press, 2006, p. 319–342.

JAVAHERY, S.; NEKOUBIN, H.; MORADLU, A. H. Effect of anaesthesia with clove oil in fish (review). **Fish Physiology and Biochemistry** . v.38, p. 1545-1552, 2012.

KAMALAM, B. S.; PATIYAL, R. S.; RAJESH, M.; MIR, J. I.; SINGH, A. K. Prolonged transport of rainbow trout fingerlings in plastic bags: Optimization of hauling conditions based on survival and water chemistry. **Aquaculture**, v. 480, p. 103-107, 2017.

KUBITZA, F. Manejo na produção de peixes. Panorama da Aqüicultura, v. 19, p. 14-23, 2009.

LUZ, R. K.; COSTA, L. S. Ribeiro, P. A. P.; SILVA, R. F.; ROSA, P. V. Influência do tempo de transporte para juvenis de pacamã (*Lophiosilurus alexandri*). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 65, n. 6, p. 1895-1898, 2013.

MAIA, J. L. S.; SOUSA, E. M. O.; SILVA, H. N. P.; PINHEIRO, M. T. L.; MOURÃO, R. H. V.; MAIA, J. G. S.; SILVA, L. V. F. Hydrolate toxicity of *Lippia alba* (Mill.) NE Brown (Verbenaceae) in juvenile tambaqui (*Colossoma macropomum*) and its potential anaesthetic properties. **Aquaculture**, v. 503, p. 367-372, 2018.

MAZZAFERA, P. Efeito alelopático do extrato alcoólico do cravo- da- índia e eugenol. **Revista Brasileira Botânica**, v.26, p.231- 38, 2003.

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

MOREIRA, A. G. L.; FARIAS, W. R. L. uso do óleo de cravo na simulação de transporte de juvenis de tilápia do nilo. **Conexões-Ciência e Tecnologia**, v. 9, n. 3, 2015.

MOREIRA, A. G.; COELHO, A. A.; ALBUQUERQUE, L. F.; MOREIRA, R. T.; FARIAS, W. R. Eugenol effect as a mitigate agent of stress in transport of Nile tilapia juveniles. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 35, n. 11, p. 893-898, 2015.

NAVARRO, D. R.; COSTA, D. C.; SILVA, W. S.; SILVA, B. C.; LUZ, R. K. Long-term transportation of juvenile pacamãs *Lophiosilurus alexandri* at different densities. **Acta Scientiarum. Technology**, v. 39, n. 2, p. 211-214, 2017.

OLIVEIRA, A. C. M.; FONTANA, A.; NEGRINI, T. C.; NOGUEIRA, M. N. M.; BEDRAN, T. B. L.; ANDRADE, C. R.; SPOLIDORIO, D. M. P. Use of *Melaleuca alternifolia* Cheel (Myrtaceae) oil in dentistry: perspectives on its use as alternative antimicrobial to infectious

diseases of oral origin. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 13, n. 4, p. 492-499, 2011.

OLIVEIRA, J.R.; CARMO, J.L.; OLIVEIRA, K.K.C.; SOARES, M.C.F. Sodium chloride, benzocaine and clove oil in tilapia transport water. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, n. 7, p. 1163-1169, 2009.

PARODI, T.V.; CUNHA, M.A.; BECKER, A. G.; ZEPPENFELD, C. C.; MARTINS, D. I.; KOAKOSKI, G.; BARCELLOS, L. G.; HEINZMANN, B. M., BALDISSEROTTO, B. Anesthetic activity of the essential oil of *Aloysia triphylla* and effectiveness in reducing stress during transport of albino and gray strains of silver catfish, *Rhamdia quelen*. **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 40, p. 323–334, 2014.

REZENDE, F. P.; PASCOAL, L. M.; VIANNA, R. A.; LANNA, E. A. T. Sedation of Nile tilapia with essential oils: tea tree, clove, eucalyptus, and mint oils. **Revista Caatinga**, v. 30, n. 2, p. 479-486, 2017.

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

SILVA, A. D. R. D.; SANTOS, R. B. D.; BRUNO, A. M. D. S. S.; SOARES, E. C. Tambaqui farming in irrigation channels under different fish densities. **Acta Amazonica**, v. 43, n. 4, p. 517-523, 2013.

URBINATI, E. C.; ABREU, J. S.; CAMARGO, A. C. S.; PARRA, M. A. L. Loading and transport stress of juvenile matrinxã (*Brycon cephalus*, Characidae) at various densities. **Aquaculture**, v. 229, n. 1-4, p. 389-400, 2004.

ZAHL, I. H.; SAMUELSEN, O.; KIESSLING, A. Anaesthesia of farmed fish: implications for welfare. **Fish Physiology and Biochemistry**, v.38, p.201-218, 2012.

Respostas fisiológicas e histológicas de tambaqui (*Colossoma macropomum*) ao estresse pós-transporte em água com o sedativo de óleo de melaleuca e óleo de cravo combinados

Eduardo Libanio Reis Santos^{1*}, Fabrício Pereira Rezende², Sandro Estevan Moron¹

¹ Universidade Federal do Tocantins, Araguaína, Tocantins, Brasil.

² Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), Palmas, Tocantins, Brasil.

*Correspondência: eduhlibanio@gmail.com

Resumo

Avaliou-se os efeitos da utilização do sedativo de óleos essenciais de melaleuca e cravo combinados em comparação aos do sal sobre indicadores de estresse em tambaqui, submetidos a dois experimentos de transporte: um de curta duração por 15 h e outro com duração maior de 36 h. Os peixes foram distribuídos em dois tratamentos, na sequência transportados dentro de sacos plásticos (195 g/L; 20 réplicas por tratamento) contendo água previamente preparada. No tratamento MEUG, os peixes foram transportados em água contendo a adição de 10,4 mg/L de solução anestésica de óleo essencial de melaleuca e óleo de cravo; no tratamento SAL, com sal a 0,8% adicionado. O grupo basal foi constituído por peixes não submetidos ao transporte. A eficácia destes fitoterápicos foi verificada pelos indicadores bioquímico, hematológico e histológico pós-transporte e após 96 h de recuperação. Os níveis de cortisol, glicose e lactato plasmático aumentaram após o transporte, em comparação aos valores antes dos transportes. Os valores glicêmicos do tratamento MEUG foram inferiores ao do tratamento SAL, independentemente do tempo de transporte. O mesmo ocorreu para o lactato, somente no experimento de 15 h. Os níveis do glicogênio hepático foram maiores no tratamento MEUG. Não houve alterações nos íons (sódio, cloreto, potássio) independente do tratamento e do tempo de transporte. A concentração de hemoglobina aumentou no tratamento SAL, após o transporte de 15 h e 36 h. As brânquias não sofreram alterações morfofisiológicas deletérias. Com exceção do glicogênio hepático no tratamento SAL, todos os parâmetros estavam semelhantes aos basais após recuperação por 96 h. Os indicadores evidenciaram respostas primárias e secundária ao estresse, demonstrando resultados mais favoráveis para o transporte de tambaquis por 15 e 36 h com uso dos óleos essenciais combinados de melaleuca e cravo a 10,4 mg L⁻¹ como sedativos.

Palavras chaves: transporte, fitoterápicos, estresse, bem-estar

1. INTRODUÇÃO

Em pisciculturas, o transporte de peixes vivos é fundamental para o ciclo de produção. O sistema básico de transporte mais comumente utilizado é o de sistema fechado, constituído por um recipiente fechado (saco plástico) onde todos os requisitos para a sobrevivência dos peixes são autocontidos (BERK, 1986; BARBAS et al., 2017). Entretanto, fatores como a duração, a densidade de carga e as mudanças bruscas nos parâmetros físico-químicos da água influenciam diretamente a eficiência desse procedimento por causarem estresse aos peixes (Z AHL et al., 2012; LUZ et al., 2013).

As respostas ao estresse em peixes são classificadas em primária, secundária e terciária. Estas respostas geralmente são usados como indicadores quantitativos do estresse, inclusive ao transporte (SAMPAIO; FREIRE, 2016). Na caracterização da resposta primária, o cortisol é um dos indicadores mais utilizados (ADAMANTE et al., 2008). Como indicadores secundários, alterações na glicemia, ácido láctico, glicogênio hepático e muscular, parâmetros hematológicos e equilíbrio hidroeletrolítico são utilizados para diagnosticar a ocorrência de estresse (WENDELAAR-BONGA, 1997). As respostas terciárias são caracterizadas pelo comprometimento do crescimento, mudanças no comportamento e aumento da susceptibilidade a doenças e conseqüentemente mortalidade (WENDELAAR-BONGA, 1997).

Alguns trabalhos descrevem alternativas para minimizar o estresse e contribuir com o bem-estar dos peixes, por exemplo, controle da densidade, adição de sal ou anestésicos na água de transporte. Em algumas situações, o tratamento com agentes anestésicos ou sedativos pode ser necessário para garantir o bem-estar dos peixes (ZAHL et al., 2012). Algumas considerações são feitas na escolha do anestésico, incluindo segurança, custo, disponibilidade e protocolo de administração (PAWAR et al., 2011).

Vários produtos sintéticos, como metanossulfonato de triclaína (MS-222), sulfato de quinaldina, benzocaína e 2-fenoxietanol são amplamente utilizados para anestésiar peixes (CORREIA et al., 2018). No entanto, efeitos negativos, como perda de muco, irritação branquial e danos na córnea podem ser observados (PARODI et al., 2014). Nos últimos anos, atenção tem sido dada para anestésicos de fontes naturais por serem menos tóxicos para animais, consumidores e para o meio ambiente, além serem de baixo custo (SACCOL et al., 2018).

O óleo de cravo, extraído de plantas do gênero *Eugenia*, é considerado seguro para humanos, animais e ambiente e de fácil aquisição (IVERSEN et al., 2003). O componente majoritário desse óleo é o eugenol (4-alil-2-metoxi-fenol) cuja propriedade anestésica é bem reportada na literatura para várias espécies (FERNANDES et al., 2017). O óleo de *Melaleuca alternifolia* é mais conhecido por sua ação bactericida e antifúngica. Estudos recentes demonstraram a sua eficácia como sedativo para algumas espécies de peixes como a *Oreochromis niloticus* (REZENDE et al., 2017) e o *Rhamdia quelen* (SOUZA et al., 2018), em outras espécies os estudos ainda são incipientes, inclusive durante o transporte.

Colossoma macropomum, comumente chamado de tambaqui, pertencente à família Serrasalmidae, é uma das espécies mais cultivadas nas pisciculturas brasileiras e de vários outros países da América do Sul e Central (FAO, 2017, REIS et al., 2019). A compreensão

das respostas ao estresse durante o transporte é importante para elaborar procedimentos de boas práticas de manejos. Objetivou-se com este estudo, avaliar a eficácia de aditivos fitoterápicos a base de óleos essenciais de melaleuca e cravo em comparação ao sal durante o transporte de tambaqui, utilizando os seguintes indicadores: características físico-químicas da água, íons plasmáticos, parâmetros hematológicos, histológicos e metabólicos.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Aditivos

O sal (cloreto de sódio, Master® 25 kg); o óleo essencial de melaleuca (Terpinen-4-ol 44%, Phytoterapica® 20 ml) e o óleo essencial de cravo (Eugenol 98%, Biodinâmica® 20 ml), foram obtidos em lojas especializadas. Devido sua natureza hidrofóbica, foi preparada uma solução sedativa diluindo-se 10 ml de cada óleo em álcool etílico 99,8% na proporção 1:1:9 (VIDAL et al., 2008).

2.2 Animais e aclimação

Juvenis de tambaqui (n = 300 total, $65,2 \pm 1,20$ g, $13,8 \pm 1,10$ cm) foram aclimatados durante 30 dias em viveiros (12 m²) nas instalações da Embrapa (Empresa Brasileira de Pesca e Aquicultura) em Palmas, Tocantins, Brasil. Durante a aclimação, a aeração foi constante, a temperatura ($28 \pm 0,6$ °C) e o pH ($7,0 \pm 0,4$) controlados. Os peixes foram alimentados diariamente em dois períodos (9 h e 16 h) com fornecimento de ração comercial extrusada *ad libitum* (32% de proteína bruta). A alimentação foi suspensa 24 h antes das experimentações, para o esvaziamento do trato digestivo.

2.3 Procedimentos experimentais

Os experimentos foram aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal do Tocantins (processo no.23.101.003678/2017-68).

Dois experimentos (Experimento 1 e Experimento 2) foram elaborados simulando os procedimentos logísticos de transporte de tambaqui comumente realizados no ciclo de produção da piscicultura. Ambos foram conduzidos em condições de tempo e procedimentos viáveis para uso em piscicultura, estes incluíram tráfego rodoviário e espera (ainda nos sacos), antes de serem efetivamente liberadas no destino final.

Nos experimentos, foram avaliados: 1) tratamento **MEUG**, preparado com 2 mL da solução sedativa diluída em 10 L de água (equivalente a 10,4 mg de óleo L⁻¹); 2) tratamento **SAL**, 100 L de água com sal a 0,8%. Estas concentrações foram estabelecidas em testes

prévios, as quais garantiram a sobrevivência. Um tratamento sem adição de aditivos não foi preparado, tendo em vista que o transporte da espécie é recomendado com a adição sal (GOMES et al., 2003; SOARES et al., 2009). Dez peixes capturados nos viveiros antes do transporte, foram utilizados para coleta de amostras (sangue, fígado, músculo branco e brânquias) para constituir um grupo de peixes que não foram submetidos ao estresse de transporte.

Os procedimentos de captura e acondicionamento nas unidades (sacos plásticos) foram idênticos em ambas as experimentações, a saber: 120 tambaquis foram capturados nos viveiros e embalados em sacos plásticos com água (0,850 L), previamente preparada com as dosagens a serem avaliadas como tratamentos. Ao total, foram 20 sacos por tratamento, na densidade de 195 g L⁻¹ (3 peixes por saco). Em seguida, os sacos foram completados com ar comprimido, lacrados, condicionadas em caixas papelão e colocadas em um veículo.

No Experimento 1, o tempo total no transporte foi de 15 h, compreendeu um deslocamento rodoviário de 375 Km com 5 h de duração (EMBRAPA-Palmas até o Laboratório de Morfofisiologia de Peixes Neotropicais da Universidade Federal do Tocantins, Araguaína/TO), onde os peixes permaneceram nos sacos por mais 10 h. Ao final desse período, os sacos foram abertos e 10 peixes por tratamento foram retirados e amostrados (coleta de sangue, fígado, músculo branco e brânquias) e os peixes remanescentes foram submetidos a recuperação.

O Experimento 2, o deslocamento rodoviário durou 6 h e o tempo de espera nos sacos plásticos foi de 30 h, totalizando assim 36 h de transporte. Ao término dessa operação, 10 peixes foram amostrados por tratamento e os peixes restantes levados à recuperação.

2.4 Recuperação do estresse

A recuperação ao estresse ocorreu a partir do momento em que os 50 peixes (não amostrados), resultantes nos sacos plásticos foram distribuídos em tanques de polietileno (500 L) correspondente para cada tratamento, para a avaliação da recuperação por 96 h. Durante este período, a aeração foi constante e os parâmetros de água controlados (temperatura: 28,0 ± 0,5 °C; pH: 6,9 ± 0,2; Oxigênio dissolvido (OD): 9,0 ± 0,3 mg L⁻¹; Amônia: 0,001 mg L⁻¹). O arraçoamento foi fornecido conforme as condições descritas durante a aclimação. Após a recuperação 10 peixes por tratamento foram submetidos a amostragem.

2.5 Coleta de amostras

O sangue foi coletado por punção do vaso caudal usando seringas embebidas em anticoagulante para a análise hematológica e bioquímica. A coleta das amostras de tecidos (fígado, músculo e brânquias) ocorreram após a eutanásia pela secção da medula espinhal dos peixes.

2.7 Análises hematológicas

Após a coleta do sangue, o hematócrito (%), a concentração de hemoglobina (g dL^{-1}) e o número de eritrócitos ($10^6 \mu\text{L}^{-1}$) foram determinados. O hematócrito foi determinado pelo método de microhematócrito, a hemoglobina pelo método da cianometahemoglobina. O número de eritrócitos foi quantificado a partir de uma alíquota de sangue total fixada em tampão formol citrato, usando-se uma câmara de Neubauer espelhada, em microscópio de luz (aumento de 40x). A partir dos resultados desses parâmetros os cálculos dos índices hematimétricos como o Volume Corpuscular Médio (VCM), a Hemoglobina Corpuscular Média (HCM) e a Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média (CHCM) foram efetuados de acordo com Ranzani-Paiva et al. (2013).

Extensões sanguíneas também foram preparadas e coradas com Panótico (Laborclin®) para contagem total trombócitos e diferencial de Leucócitos seguindo as recomendações de Ranzani-Paiva et al., (2013).

2.6 Análises Bioquímicas

Amostras de sangue de 1,0 ml de cada animal foram centrifugadas a 12000 g por 3 min para separação de plasma e consecutivamente armazenado a $-20\text{ }^\circ\text{C}$. No plasma foram determinadas as concentrações de cortisol ($\mu\text{g dL}^{-1}$), glicose (mg dL^{-1}), lactato (mmol L^{-1}), íon sódio (mEq L^{-1}), íon cloreto (mEq L^{-1}) e íon potássio (mEq L^{-1}). As determinações ocorreram com a utilização de kits específicos para cada parâmetro, seguindo as recomendações de cada fabricante, a leitura ocorreu em microplacas através de um espectrofotômetro. As amostras de fígado e músculo branco foram utilizadas para determinar a concentração do glicogênio hepático e glicogênio muscular por meio de ensaio do teor de açúcares totais (leitura em microplacas, a 480 nm) e os resultados foram expressos em μmols de glicosil-glicose g de tecido⁻¹ (BIDINOTTO et al., 1997).

2.7 Processamento histológico e coloração

As amostras do tecido branquial foram fixadas por 24 h em solução Bouin, após fixação foram desidratados em séries crescentes de álcoois (de 70% a 100%), diafanizadas em

xilol, impregnados e posteriormente incorporados em parafina. Na sequência, o material foi seccionado em cortes sagitais e transversais com 3 μm , estes foram hidratados e recolhidos em lâminas de vidros e então coradas em Hematoxilina e Eosina (HE) para as análises de alterações morfológicas no epitélio branquial. Já às secções transversais foram coradas em ácido periódico de Schiff (Mc Manaus, 1948) para contagem total de células produtoras de muco.

2.7.1 Análises histológicas

A análise do tecido branquial foi obtida em um microscópio conectado a um computador pelo software LAS 2.0. O tecido branquial foi examinado em 10 campos aleatórios contendo 10 lamelas secundárias por campo em aumento de 400x. Estes exames ocorreram semi-quantitativamente pelo Cálculo do Valor Médio de Alteração (VMA), com base na incidência de lesões (SCHWAIGER et al., 1997) e pelo Cálculo do Índice de Alteração Histopatológica (IAH), baseado na severidade de cada lesão (POLEKSIC & MITROVIC – TUTUNDZIC, 1994).

2.7.2 Contagem de células mucosas

O número total de células mucosas no epitélio branquial foi quantificado em 10 campos aleatórios por peixe, cada campo foi constituído por um corte transversal do filamento branquial no aumento de 400x, desta maneira contabilizou-se o número total de células produtoras de muco presentes nestes filamentos.

2.8 Análise da água

As características físico-químicas da água foram mensuradas nos sacos plásticos antes e após a conclusão do transporte em ambos os experimentos. A temperatura foi aferida por meio de um termômetro, nos demais parâmetros (oxigênio dissolvido, pH e concentração de amônia) foram utilizados kits específicos.

2.9 Análise estatística

Os valores de todos parâmetros foram expressos como média \pm desvio padrão. Todos os dados foram submetidos ao teste de Bartley para verificar a homogeneidade das variâncias. A normalidade dos dados foi avaliada pelo teste de Shapiro-Wilk. As diferenças estatísticas entre os grupos experimentais foram determinadas pelo teste de variância ANOVA

e teste de Tukey. As diferenças foram consideradas significativas com valores de P inferiores a 0,05. Estas análises ocorreram com o software Graph Pad InStat® 5.0.

3. RESULTADOS

3.1 Parâmetros de qualidade de água e mortalidade

Não ocorreram mortalidades de tambaquis durante os experimentos.

Os valores dos parâmetros de qualidade de água do experimento 1 e do experimento 2 estão listados a seguir (tabela 1). Para a temperatura e o pH não ocorreram diferenças significativas em ambos os experimentos. Ocorreu redução do oxigênio dissolvido e aumento na concentração de amônia após os transportes. Entretanto, o oxigênio dissolvido foi significativamente maior e a concentração de amônia menor no tratamento MEUG em relação ao tratamento SAL.

Tabela 1. Parâmetros de qualidade de água após o transporte de *Colossoma macropomum* em período de 15 h e 36 h e recuperação por 96 horas

Parâmetro	Transporte por 15 h		
	Antes	Pós-transporte	
	Início	SAL	MEUG
Temperatura (°C)	26,6 ± 1,0	27,3 ± 0,7a	25,6 ± 0,5a
Oxigênio Dissolvido (mg L ⁻¹)	8,5 ± 0,5	3,0 ± 0,8b*	4,5 ± 0,5a*
pH	6,8 ± 0,3	6,0 ± 0,7a	6,2 ± 0,5a
Amônia (mg L ⁻¹)	0,001 ± 0,0001	0,042 ± 0,003b	0,020 ± 0,002a
Parâmetro	Transporte por 36 h		
	Antes	Pós-transporte	
	Início	SAL	MEUG
Temperatura (°C)	25,7 ± 0,4	27,4 ± 0,8a	26,4 ± 0,5a
Oxigênio Dissolvido (mg L ⁻¹)	9,0 ± 0,5	2,5 ± 0,8a*	4,0 ± 0,4b*
pH	6,9 ± 0,6	5,8 ± 0,6 ^a	6,3 ± 0,5a
Amônia (mg L ⁻¹)	0,001 ± 0,0001	0,040 ± 0,0001b	0,022 ± 0,0002a

¹Valores são médias com desvio padrão. * Indica diferença em relação ao valor inicial. Letras diferentes na mesma linha representam diferenças significativas (P < 0,05) pelo teste de Tukey

3.3 Parâmetros hematológicos

Os valores médios dos parâmetros hematológicos dos tambaquis expostos aos dois experimentos de transporte, antes, pós-transporte e após as 96 h de recuperação estão apresentados na Tabela 2. Houve aumento na concentração de hemoglobina dos peixes do tratamento SAL em comparação aos valores basais, em ambos os experimentos. Após as 96 h de recuperação os valores não diferiram.

Tabela 2. Parâmetros hematológicos de tambaqui submetidos ao transporte por 15 e por 36 horas e recuperação por 96 horas. RBC = eritrócitos; Hb = hemoglobina; VCM = volume corpuscular médio; HCM = hemoglobina corpuscular média; CHCM = concentração de hemoglobina corpuscular média

Parâmetro	Transporte por 15 h				
	Basal	Pós-transporte		Pós-recuperação	
		SAL	MEUG	SAL	MEUG
RBC ($10^6 \mu\text{L}^{-1}$)	2,2 ± 0,13	2,5 ± 0,14a	2,3 ± 0,14a	2,07 ± 0,15a	2,10 ± 0,14a
Hb (g dL ⁻¹)	10,7 ± 0,9	14,2 ± 0,8*b	11,4 ± 3,5a	12,4 ± 3,5a	11,3 ± 0,6a
Hct (%)	25,47 ± 3,33	27,73 ± 3,01a	27,80 ± 3,78a	26,30 ± 2,3a	27,07 ± 2,2a
HCM (fL)	50,11 ± 7,47	55,23 ± 8,25a	51,40 ± 11,78a	51,25 ± 6,7a	50,95 ± 6,8a
VCM (pg cel ⁻¹)	114,98 ± 11,58	116,72 ± 7,98a	112,01 ± 13,63a	126,2 ± 10a	116,7 ± 9,2a
CHCM (pg fL ⁻¹)	0,54 ± 0,09	0,58 ± 0,1a	0,55 ± 0,084a	0,55 ± 0,09a	0,52 ± 0,08a
Transporte por 36 h					
RBC ($10^6 \mu\text{L}^{-1}$)	2,3 ± 0,5	2,6 ± 0,14a	2,4 ± 0,14a	2,27 ± 0,15a	2,30 ± 0,2a
Hb (g/dL)	11,28 ± 1,0	15,23 ± 0,7*b	12,5 ± 0,9a	12,1 ± 1,2a	11,05 ± 0,6a
Hct (%)	25,5 ± 1,2	28,7 ± 1,5a	27,5 ± 0,9a	25,30 ± 1,3a	26,08 ± 1,2a
HCM (fL)	59,2 ± 5,3	60,2 ± 5,25a	58,3 ± 3,78a	66,19 ± 4,7a	60,95 ± 6,8a
VCM (pg/cel)	118,68 ± 11,58	136,72 ± 7,98a	122,01 ± 13,63a	126,2 ± 10,4a	122,7 ± 9,2a
CHCM (pg/fL)	0,59 ± 0,03	0,62 ± 0,04a	0,51 ± 0,084a	0,54 ± 0,09a	0,52 ± 0,05a

¹Valores são médias com desvio padrão. Letras diferentes na mesma linha representam diferenças significativas ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey

A contagem de trombócitos totais, leucócitos totais e a diferencial de leucócitos não apresentaram diferenças significativas, independentemente do tempo de transporte ou ao tratamento utilizado (Tabela 3).

Tabela 3. Contagem total de trombócitos (Tb totais), de Leucócitos totais (Lc totais) e diferencial de leucócitos de juvenis de *Colossoma macropomum* submetidos ao transporte por 15 h e 36 h e recuperação por 96 horas

Parâmetros (μL)	Transporte por 15 h				
	Controle	Pós-transporte		Pós-recuperação	
		SAL	MEUG	SAL	MEUG
Tb totais	12.420 ± 2.339	11.490 ± 2.652a	12.930 ± 1.867a	11.430 ± 2.303a	12.430 ± 1.604a
Lc totais	85.933 ± 5.580	83.554 ± 7.650a	87.911 ± 9.864a	84.464 ± 5.743a	85.752 ± 7245a
Linfócitos	76.400 ± 4.630	71.910 ± 7.856a	76.235 ± 8.082a	75.557 ± 8.387a	81.336 ± 8.454a
Neutrófilos	5.247 ± 1.080	2.647 ± 2.036a	3.606 ± 1.633,4a	3.262 ± 1.384a	3.378 ± 1.474a
Monócitos	2.565 ± 658	3.401 ± 1.014a	3.126 ± 1.262a	3.035 ± 1.093a	2.783 ± 629a
Basófilos	904 ± 445,8	1252 ± 609a	1.737 ± 577a	1.518 ± 457a	1.275 ± 557a
LG-PAS	1.910 ± 812	1.853 ± 534a	1.561 ± 684a	1.158 ± 460a	1.442 ± 374a
Transporte por 36 h					

Tb totais	12.031 ± 1.500	13.310 ± 1.813a	13.900 ± 2.078a	13.010 ± 2.345a	14.310 ± 1.986a
Lc totais	79.205 ± 5.743	84.704 ± 6.526a	87.443 ± 9.864a	82.058 ± 5.743a	85.752 ± 5.397a
Linfócitos	78.374 ± 7.358,1	75.895 ± 8.294,7a	78.411 ± 8745,5a	73.927 ± 6.148a	79.230 ± 11.806a
Neutrófilos	3.428 ± 1.172	2.866 ± 1.801a	2.978 ± 731,4a	2.458 ± 532a	3.110 ± 1.870a
Monócitos	2.347 ± 806,2	3.274 ± 1.482,1a	2.544 ± 942,9a	2.550 ± 1343a	2.249 ± 1.540a
Basófilos	861 ± 721,8	818 ± 548a	1.291 ± 432a	980 ± 332a	948 ± 516a
LG-PAS	1.910 ± 812,5	1.853 ± 534,6a	1.561 ± 684,5a	1.158 ± 460,7a	1.442 ± 374a

¹Valores são médias com desvio padrão. Letras diferentes na mesma linha representam diferenças significativas ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey

3.3 Parâmetros bioquímicos

Os níveis de cortisol plasmático aumentaram no tratamento SAL e no tratamento MEUG, imediatamente após o transporte de 15 h e 36 h, em relação aos valores basais (Figura 1). Não houve diferenças entre os dois tratamentos. Após 96 h de recuperação, os valores retornaram aos basais.

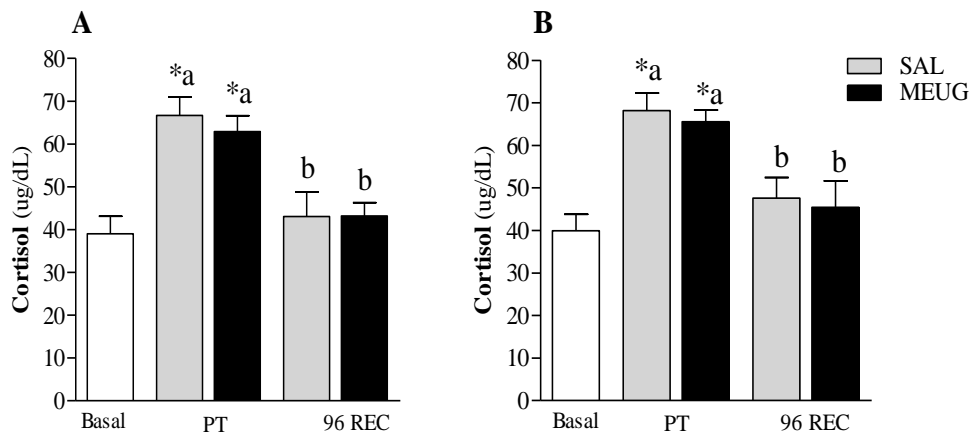


Figura 1. Níveis de cortisol plasmático em *Collossoma macropomum* submetidos ao transporte de 15 h (A) e 36 h (B) com adição de sal a 0,8% (SAL) ou sedativo de óleo essencial de melaleuca e cravo a 10,4 mg L⁻¹ (MEUG). * Indica diferença significativa ($p < 0,05$) em comparação ao grupo basal. Letras diferentes nas barras representam diferenças entre os tratamentos pelo teste de Tukey ($p < 0,05$) em cada tempo de amostragem: PT (Pós-transporte); 96 REC (após 96 horas de recuperação)

Os níveis plasmáticos de glicose aumentaram após as 15 h e 36 h de transporte, em ambos os tratamentos, em relação ao grupo basal (figura 2). Entretanto, os valores foram significativamente menores no tratamento MEUG em comparação ao tratamento SAL. Os níveis de lactato plasmático também aumentaram, após os períodos de transporte, nos dois tratamentos avaliados (figura 2). Todavia, no tratamento MEUG, os níveis de lactato plasmático foram significativamente inferiores ao tratamento SAL após o transporte de 15 h. Isto não ocorreu após o transporte de 36 h, onde os valores do lactato plasmático não

diferiram entre os tratamentos. Após as 96 h de recuperação, não ocorreram diferenças entre tratamentos, os níveis de glicose e lactato plasmáticos estavam semelhantes aos basais.

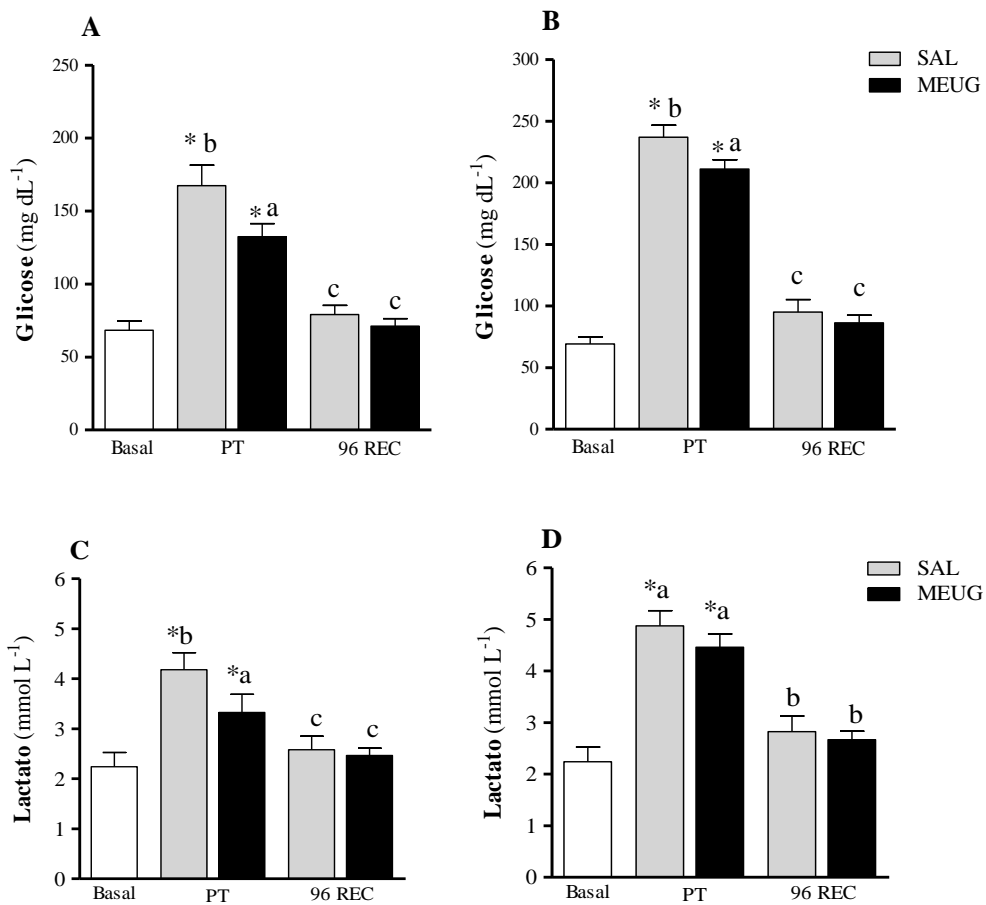


Figura 2. Glicose plasmática e lactato plasmático em *Colossoma macropomum* submetidos ao transporte de 15 h (A, C) e 36 h (B, D) com adição de sal a 0,8% (SAL) ou sedativo de óleo essencial de melaleuca e cravo a 10,4 mg L⁻¹ (MEUG). * Indica diferença significativa ($p < 0,05$) em comparação ao grupo basal. Letras diferentes nas barras representam diferenças entre os tratamentos pelo teste de Tukey ($p < 0,05$) em cada tempo de amostragem: PT (Pós-transporte); 96 REC (após 96 horas de recuperação)

Os íons cloreto, sódio e potássio, não apresentaram variações significativas ($P < 0,05$) após os transportes 15 h e 36 h ou após 96 h de recuperação (Figura 3).

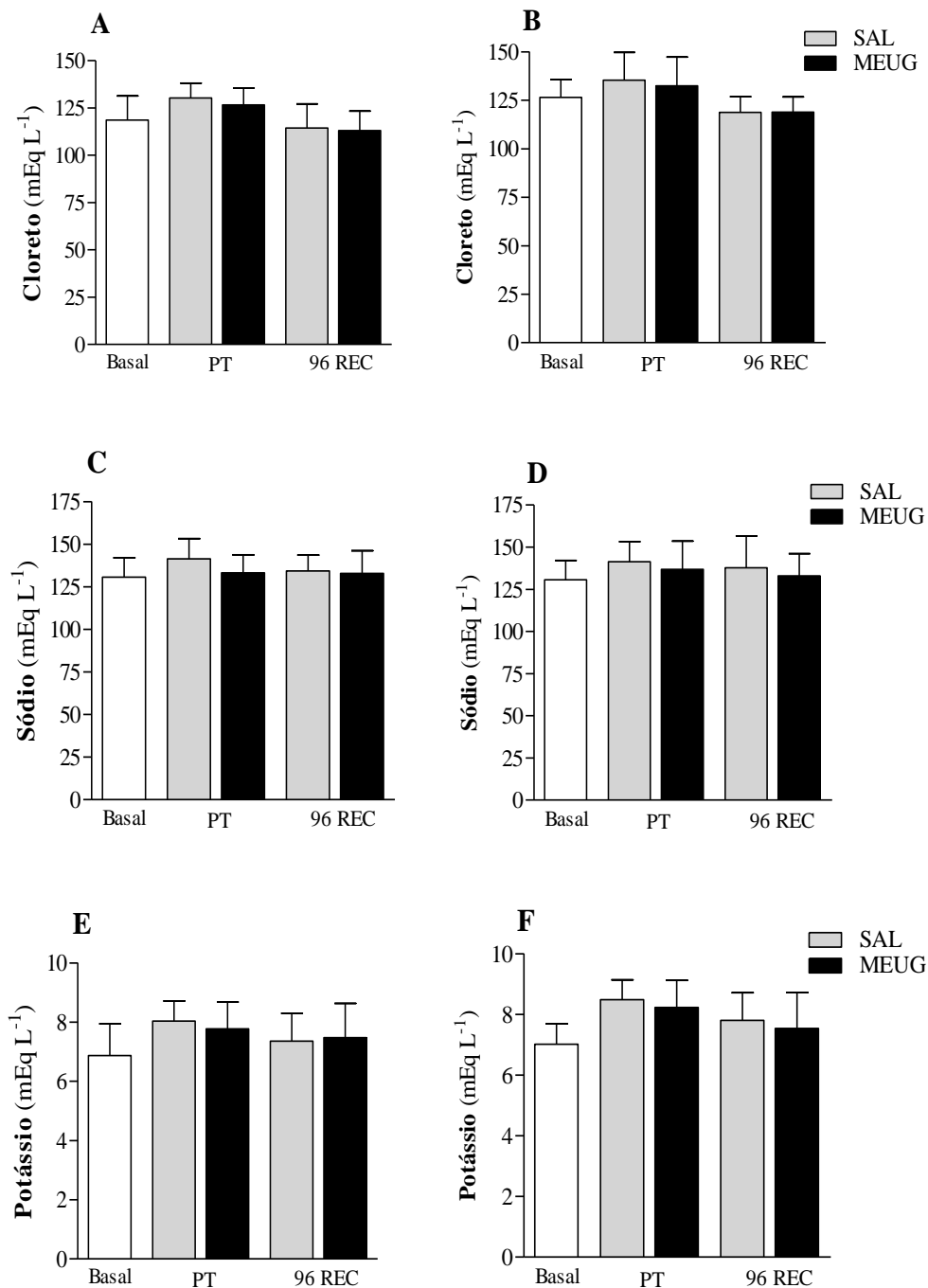


Figura 3. Níveis plasmático do Íons sódio, cloreto e potássio em *Collossoma macropomum* submetidos ao transporte de 15 h (A, C, E) e 36 h (B, D, F) com adição de sal a 0,8% (SAL) ou sedativo de óleo essencial de melaleuca e cravo a 10,4 mg L⁻¹ (MEUG). * Indica diferença significativa ($p < 0,05$) em comparação ao grupo basal. Letras diferentes nas barras representam diferenças entre os tratamentos pelo teste de Tukey ($p < 0,05$) em cada tempo de amostragem: PT (Pós-transporte); 96 REC (após 96 horas de recuperação)

Após o transporte por 15 h e 36 h, houve uma depleção do glicogênio hepático nos tratamentos em comparação aos níveis basais (figura 4). Entre os dois tratamentos a depleção foi maior no tratamento SAL. Após a recuperação, os níveis do tratamento SAL não

retornaram aos níveis basais. O inverso ocorreu para o tratamento MEUG com o retorno aos níveis basais. O glicogênio muscular não apresentou alterações significativas após o transporte ou após recuperação independente do tempo de transporte (figura 4).

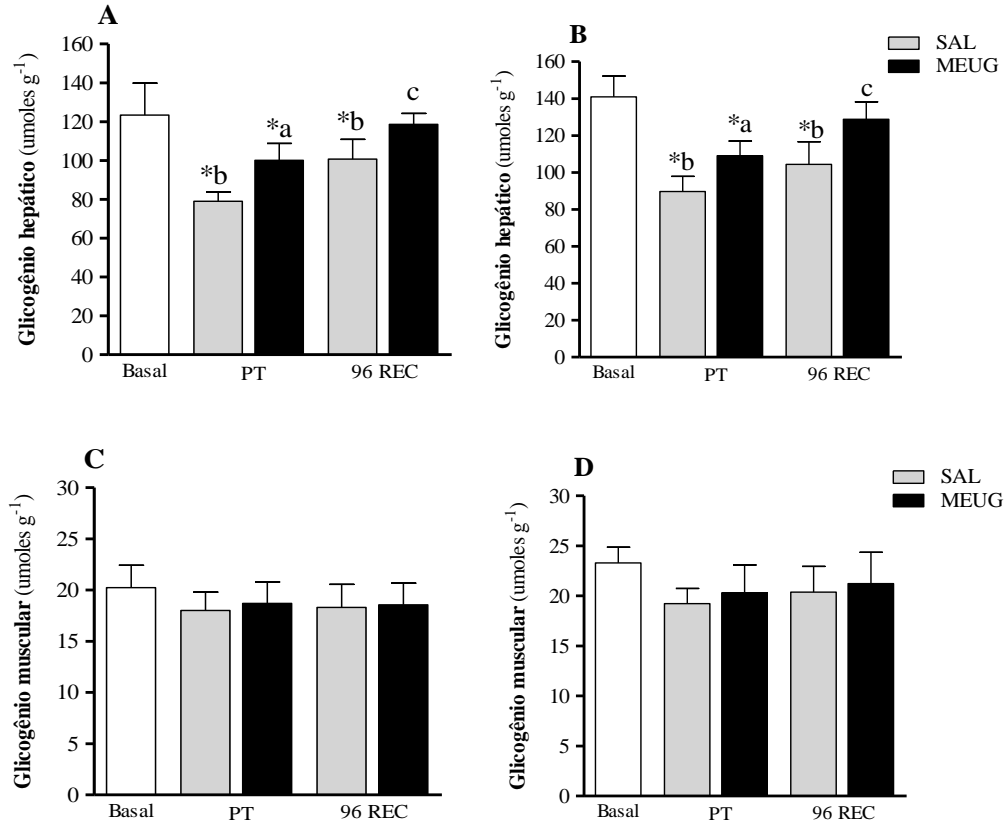


Figura 4. Níveis do glicogênio hepático e muscular em *Collossoma macropomum* submetidos ao transporte de 15 h (A) e 36 h (B) com adição de sal a 0,8% (SAL) ou sedativo de óleo essencial de melaleuca e cravo a 10,4 mg L⁻¹ (MEUG). * Indica diferença significativa ($p < 0,05$) em comparação ao grupo basal. Letras diferentes nas barras representam diferenças entre os tratamentos pelo teste de Tukey ($p < 0,05$) em cada tempo de amostragem: PT (Pós-transporte); 96 REC (após 96 horas de recuperação)

3.4 Parâmetros histológicos

O epitélio branquial nos tambaquis após os experimentos por períodos de 15 h e 36 h de transporte, apresentaram as seguintes alterações: hipertrofia do epitélio lamelar, hiperplasia do epitélio lamelar, fusão lamelar, edema e aneurisma, estas são classificadas em alterações de estágio I e II conforme a tabela 4; (figura 8).

Tabela 4. Frequência das alterações no epitélio branquial de *Collossoma macropomum* submetidos ao transporte de 15 horas e recuperação por 96 horas

Transporte por 15 h		
	Pós-transporte	Pós-recuperação

Alteração	Estágio	Basal	SAL	MEUG	SAL	MEUG
Hipertrofia do epitélio lamelar	I	0+	+	0+	+	0+
Hiperplasia do epitélio lamelar	I	0	0+	0+	0+	0
Fusão lamelar	I	0	0+	0+	0	0
Edema	I	0	0	0	0+	0+
Descolamento epitelial	II	0	0+	0	0+	0

Transporte por 36 h						
Hipertrofia do epitélio lamelar	I	0	+	0+	0+	0
Hiperplasia do epitélio lamelar	I	0+	0+	0+	0+	0
Fusão lamelar	I	0	0	0+	+	+
Edema	I	0	0+	0	0+	0
Aneurisma lamelar	II	0	0+	0	0	0

*0 = sem alteração 0+ = raramente frequente; + = frequente ++ = muito frequente; +++ = extremamente frequente.

O VMA indicou alterações do grau 2, pontualmente localizadas no tecido branquial, estas não diferiram significativamente após o transporte nos tratamentos (figura 5). O IAH demonstrou que as alterações não comprometem as funções das brânquias (figura 6).

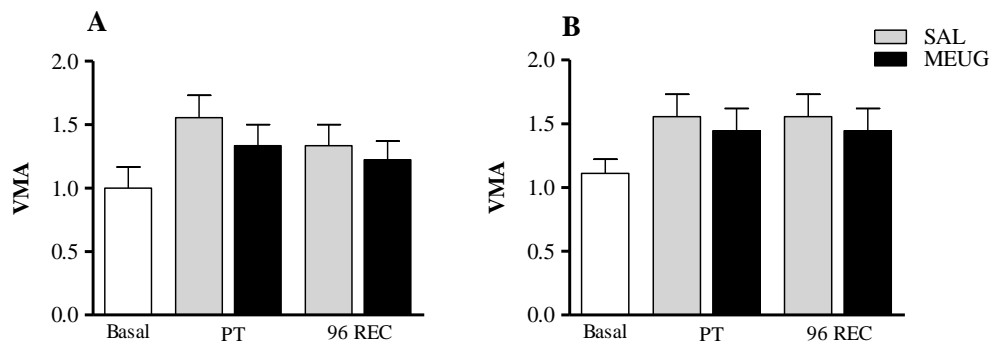


Figura 5. Valor Médio de Alteração (VMA) em *Colossoma macropomum* submetidos ao transporte de 15 h (A) e 36 h (B) com adição de sal a 0,8% (SAL) ou sedativo de óleo essencial de melaleuca e cravo a 10,4 mg L⁻¹ (MEUG). * Indica diferença significativa (p < 0,05) em comparação ao grupo basal. Letras diferentes nas barras representam diferenças entre os tratamentos pelo teste de Tukey (p < 0,05) em cada tempo de amostragem: PT (Pós-transporte); 96 REC (após 96 horas de recuperação)

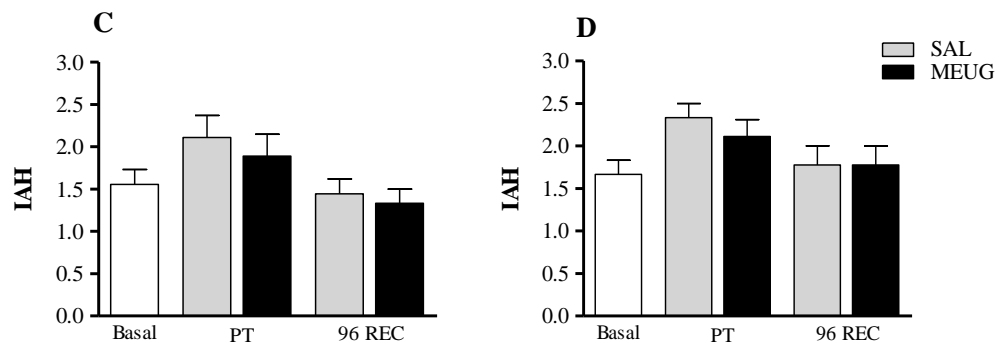


Figura 6. Índice de Alteração Histopatológica (IAH) em *Collossoma macropomum* submetidos ao transporte de 15 h (A) e 36 h (B) com adição de sal a 0,8% (SAL) ou sedativo de óleo essencial de melaleuca e cravo a 10,4 mg L⁻¹ (MEUG). * Indica diferença significativa ($p < 0,05$) em comparação ao grupo basal. Letras diferentes nas barras representam diferenças entre os tratamentos pelo teste de Tukey ($p < 0,05$) em cada tempo de amostragem: PT (Pós-transporte); 96 REC (após 96 horas de recuperação)

3.5 Células mucosas

O número de células mucosas no epitélio branquial dos tambaquis após os experimentos de transporte e recuperação posterior de 96 h, não apresentou alterações significativas (Figura 7).

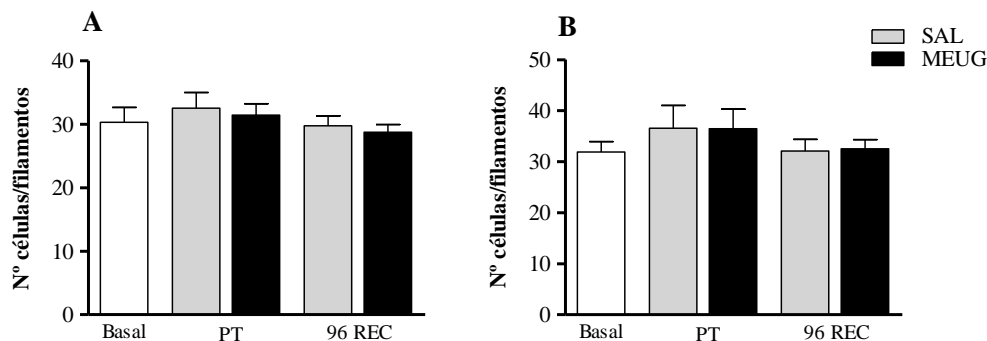


Figura 7. Número de células mucosas do epitélio branquial em *Collossoma macropomum* submetidos ao transporte de 15 h (A) e 36 h (B) com adição de sal a 0,8% (SAL) ou sedativo de óleo essencial de melaleuca e cravo a 10,4 mg L⁻¹ (MEUG). * Indica diferença significativa ($p < 0,05$) em comparação ao grupo basal. Letras diferentes nas barras representam diferenças entre os tratamentos pelo teste de Tukey ($p < 0,05$) em cada tempo de amostragem: PT (Pós-transporte); 96 REC (após 96 horas de recuperação)

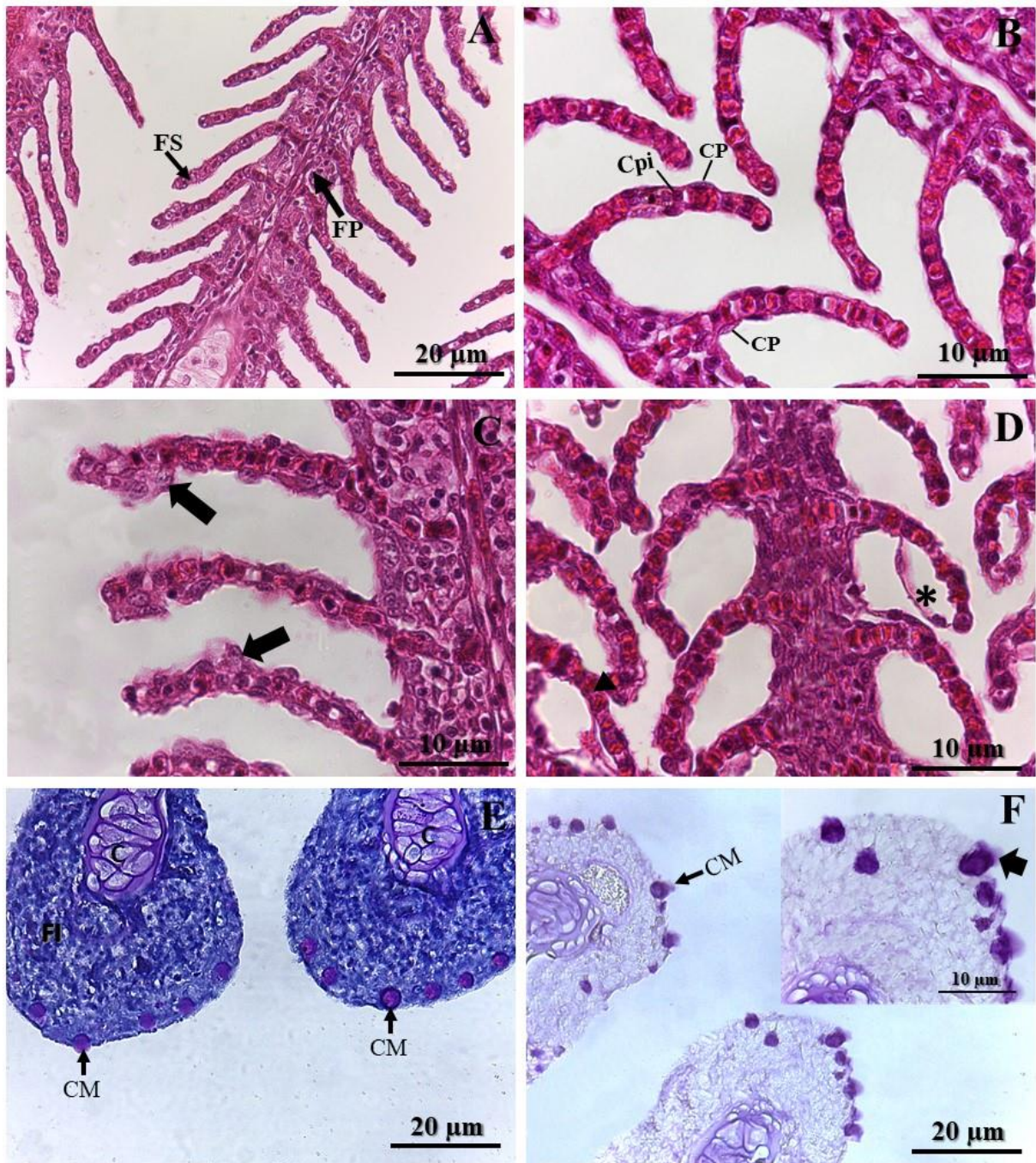


Figura 8. Epitélio branquial em *Colossoma macropomum* submetidos ao transporte com sedativo ou sal. A – Grupo Basal, corte sagital do filamento primário (FP) e do filamento secundário (FS), sem alterações. B – Detalhe do filamento secundário, Célula pavimentosa (CP) e célula pilar (Cpi). C – MEUG, detalhe da hipertrofia das células epiteliais (setas) do filamento primário. SAL, descolamento do epitélio do filamento (*). E – Controle, detalhe do filamento (Fi) em corte transversal, cartilagem (c), células mucosas (CM). F – Grupo melaleuca e cravo, célula mucosa (CM), muco liberado (seta). A, B, C e D: Corado em HE, E: Reativo de Schiff (PAS) e Hematoxilina; F: PAS

2. DISCUSSÃO

A mensuração dos parâmetros da qualidade da água durante o transporte é essencial para eficiência desse procedimento (SAMPAIO; FREIRE, 2016). A temperatura da água, esteve dentro da faixa de valores confortáveis para a espécie, conforme apontado no estudo de Silva et al. (2015). O pH reduzido após a condução dos experimentos, mostrou que houve aumento de CO₂, oriundo da respiração natural dos peixes (KAMALAM et al., 2017), assim como o observado por Anjos et al. (2011) após o transporte da mesma espécie por 12 h. A redução nos níveis de oxigênio dissolvido na água após os períodos de transporte, evidenciou o consumo pelos peixes. No tratamento sedativo a 10,4 mg L⁻¹ o oxigênio dissolvido permaneceu na faixa adequada para o tambaqui. O aumento na concentração de amônia com o decorrer dos tempos de transporte, já era esperada, visto que à medida que os animais ficam mais tempo confinados nos sacos plásticos, sua concentração tende a aumentar devido à excreção de metabólitos (SAMPAIO; FREIRE, 2016). A excreção de amônia também foi influenciada pela presença dos óleos melaleuca e cravo, demonstrando que a sua adição pode ter provocado uma redução no metabolismo dos peixes. De forma similar, no bagre, *Lophiosilurus alexandri*, o óleo essencial de *Aloysia triphylla* (12,5 e 25 µL L⁻¹) reduziu a excreção de amônia após um transporte por 4 horas em sistema fechado (BECKER et al., 2017).

O aumento no nível de cortisol plasmático é considerado um indicador da resposta primária ao estresse em peixes (ADAMANTE et al., 2008). Após o transporte de 15 ou 36 h, os tambaquis evidenciaram essa resposta ao apresentarem valores elevados de cortisol. A recuperação por 96 h amenizou tal resposta, indicada pelo retorno aos valores basais. Em um transporte em sistema fechado, da mesma espécie por 3 h, houve aumento de cortisol e retorno aos valores iniciais 24 h após (CHAGAS et al., 2012). Pirarucus, *Arapaima gigas*, transportados em água a 0,1% de sal, também apresentaram aumento de cortisol após o transporte, (GOMES et al., 2006).

Os níveis de glicose plasmática aumentaram após o transporte, em ambas as experimentações, com declínio 96 h após a recuperação, confirmando assim, uma resposta secundária ao estresse (IWAMA et al., 2006). No experimento de 36 h de transporte, essa resposta foi mais expressiva, mostrando um reflexo do maior tempo de transporte. Fagundes e Urbinati (2008), ao estudar as respostas fisiológicas do pintado, *Pseudoplatystoma corruscans*, ao estresse de transporte, observaram que a glicemia dos peixes apresentou um aumento significativo logo após o transporte com retorno aos valores basais 72 h após o

procedimento. Os tambaquis transportados com a adição de 10,4 mg L⁻¹ do sedativo de melaleuca e cravo, apresentou níveis glicêmicos inferiores aos dos peixes transportado com sal a 0,8%, demonstrando um efeito positivo desses fitoterápicos que possivelmente amenizou o estresse, mostrado pela menor demanda energética. Segundo Martínez-Porchas et al. (2009), o aumento da concentração de glicose representa uma resposta imediata à elevação das taxas metabólicas e respiratórias nas células musculares e, portanto, nestes peixes foram atenuadas pelo sedativo. Resultado similar, ocorreu com a resposta glicêmica do matrinxã, *Brycon cephalus*, submetidos ao transporte com a adição de 5 mg L⁻¹ de óleo de cravo (INOUE et al., 2005).

O aumento do lactato plasmático foi mais expressivo no tratamento com sal devido ao aumento do metabolismo anaeróbico para fornecimento de energia, em função dos baixos níveis de oxigênio disponíveis, sendo o lactato o principal metabólito produzido, pois Segundo Morais et al. (2002), níveis reduzidos de oxigênio na água é geralmente um estressor muito comum para peixes e isso resulta na exportação de grandes quantidades de lactato muscular para o plasma. Estes autores observaram elevação do lactato em tuvira, *Gymnotus carapo*, após exposição a condições de hipóxia. Aumento do lactato plasmático foi similarmente descrito por Moreira et al. (2015) em tilápias, após o transporte por 4 horas.

Os níveis do glicogênio hepático dos tambaquis reduziram após os dois experimentos de transportes de 15 h e 36 h, possivelmente pelo aumento da demanda energética nas situações de transporte, pois nessas condições de estresse ocorre geralmente a mobilização das reservas de glicogênio hepático para suprir a energia (WENDELAAR-BONGA, 1997), principalmente durante a privação alimentar (VIJAYAN; MOON, 1992). Semelhantemente, redução no glicogênio hepático foi descrita em bagres prateados, *R. quelen*, após o transporte de 6 horas com anestésico de *Aloisia triphylla* (ZEPPEFELD et al., 2014).

A recuperação por 96 h promoveu o retorno aos níveis iniciais de glicogênio hepático dos peixes do tratamento sedativo, em função da retomada da alimentação habitual 48 h após transporte, diferentemente, os peixes do tratamento sal retomaram a alimentação 72 h depois e por isso não mostraram retorno aos níveis basais. Peixes menos estressados após operação de transporte retomam a alimentação habitualmente nas primeiras 48 h, demonstrando assim sinais de recuperação (GOMES et al., 2003), nesse sentido, o comportamento alimentar dos peixes expostos ao anestésico sugere mais rapidez ao retorno a homeostase.

A condição estressante, ocasionada pelo transporte, pode ainda aumentar a perda de íons em peixes de água doce devido ao aumento do fluxo sanguíneo nas brânquias e consequentes mudanças na permeabilidade celular (CECH JR. et al., 1996). No tambaqui, o

tratamento com anestésico e o tratamento com sal preveniram a perda de íons cloreto, sódio e potássio durante os experimentos. Para o tratamento com o sal, isso era esperado uma vez que essa substância reduz o gradiente osmótico entre a água e o plasma dos peixes conforme apontado pelo estudo de Anjos et al. (2011). O efeito observado na presença dos óleos sedativos, provavelmente foi resultado do menor fluxo sanguíneo branquial que ocorreu porque os peixes estavam menos agitados. De forma análoga, o óleo essencial de *Lippia alba*, de *Aloysia triphylla* e eugenol reduziram os efluxos desses eletrólitos no *R. quelen* após o transporte por 4 h (BECKER et al., 2012; ZEPPEFELD et al., 2014), de acordo os autores citados, quanto menor for a frequência ventilatória menor será o efluxo de íons.

Análises hematológicas são utilizadas frequentemente na avaliação do estado de saúde de peixes (FAZIO, 2019), sendo uma ferramenta complementar para quantificação do estresse oriundo do transporte (CHAGAS et al., 2012). Nos peixes transportados em água contendo sal, a hemoglobina apresentou um aumento e, inclusive, um pouco mais acentuado no transporte por 36 h. Essa resposta aconteceu devido a maior necessidade de oxigênio, pois na tentativa de suprir a alta demanda energética do organismo em condição estressante geralmente há um incremento de hemoglobina para conduzir mais oxigênio pelo sangue (WOJTASZEK et al., 2002). Chagas et al. (2012) registraram o aumento da concentração de hemoglobina em tambaquis após um transporte por 3 h, o retorno a concentração inicial ocorreu 24 h após. Neste trabalho, 96 h de recuperação foram suficientes para retomada às concentrações basais.

O transporte é um fator estressante que pode diminuir a resistência imunológica dos peixes e desencadear alterações nos leucócitos desses animais (RANZANI-PAIVA et al., 2013). Por exemplo, *Hypostomus* sp, demonstrou leucocitose após o procedimento de transporte em sistema fechado (NEVES et al., 2016). No entanto, no presente estudo não ocorreram alterações significativas no número de trombócitos e leucócitos dos peixes, além disso, mantiveram-se com características semelhantes após o transporte e recuperação nos dois experimentos. Isto pode ser indícios de que os aditivos contribuíram de alguma forma para assegurar a resistência imunológica dos tambaquis após a imposição do estresse por 15 e 36 horas. O sal adicionado na água de transporte da truta arco-íris, *Oncorhynchus mykiss*, melhorou a imunidade do muco da pele e inibiu o crescimento de *Vibrio anguillarum* (TACCHI et al., 2015). Além de propriedade sedativas, os essenciais são frequentemente citados por possuírem outras atividades bioativas, como a imunoestimulante. O estudo de Baldissera et al. (2017), por exemplo, relatou a atividade imunoestimulante do óleo de melaleuca em bagres prateados, *Rhandia quelen*, após os peixes serem desafiados com

Aeromonas hydrophila. Entretanto, este aspecto merece estudos adicionais no transporte de peixes.

Os estudos histopatológicos são importantes para se verificar a sensibilidade de órgãos às substâncias tóxicas, principalmente ao epitélio branquial, devido as trocas gasosas e osmorregulação. O transporte por 15 h ou 36 h, com sal ou óleos melaleuca e cravo adicionados, não ocasionou alterações morfofisiológicas prejudiciais ao epitélio branquial. O VMA e IAH demonstrou que estas alterações estavam pontualmente localizadas, indicando o não comprometimento das brânquias. Consideradas alterações de ajustes as condições impostas, uma vez que o epitélio branquial, por estar em contato direto com o meio externo, representa uma barreira entre meio externo e meio interno, tornando este tecido altamente susceptível a alterações ambientais (POLEKSIC e MITROVIC-TUTUNDŽIC, 1994), portanto as mudanças em alguns parâmetros da água, como amônia e pH, já era o suficiente para a manifestação destas lesões. Em *Betta splendens*, o exame histopatológico das brânquias revelou, que a exposição por 48 horas a 40 ppm do óleo de cravo causou alterações de ajuste, tais como edema do epitélio de lamelas secundárias, hiperplasia de células epiteliais, elevação epitelial e fusão parcial de lamelas secundárias (WARISTHA et al., 2011).

Células mucosas presentes no epitélio branquial e sua secreção podem ser um mecanismo de adaptação a diferentes condições ao meio aquático (MORON et al., 2018). Todavia, não foi ocorreu alterações significativamente no número de células mucosas no epitélio branquial dos tambaquis durante a execução dos experimentos. Similarmente, o emprego de hidrolato de *Lippia alba* como sedativo evitou alterações no número de células mucosas do epitélio branquial de tambaquis submetidos a simulação de transporte por 17 h em densidades de 30 e 60 peixes L⁻¹ (SILVA et al., 2017).

5. CONCLUSÃO

O tambaqui apresentou respostas primárias e secundárias ao estresse de transporte por 15 e 36 horas nos dois tratamentos. O estresse foi mais evidenciado no transporte de 36 h, mas sem implicações na sobrevivência. O sedativo de óleos essenciais de melaleuca e cravo a 10,4 mg L⁻¹ demonstrou-se como mais apropriado para o transporte de tambaqui, do que o sal a 0,8%, por garantir melhor qualidade da água, amenizar os efeitos do estresse sobre a maioria das respostas fisiológicas e propiciar menor tempo de recuperação após 96 horas.

REFERÊNCIAS

- ANJOS, G. M.; SOARES, E. C.; DANTAS, L. H. N.; SANTOS, R. B.; PINHEIRO, D. M.; ALBUQUERQUE, Á. A. Eugenol, sal e gesso no transporte de tambaqui em sistemas fechados. **PUBVET**, v. 5, n. 10, p. 1058-1064, 2011.
- ADAMANTE, W. B.; NUÑER, A. P. O.; BARCELLOS, L. J. G.; SOSO, A. B.; FINCO, J. A. Stress in *Salminus brasiliensis* fingerlings due to different densities and times of transportation. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 60, n. 3, p. 755-761, 2008.
- BALDISSERA, M. D; SOUZA, C. F.; DOLESKI, P. H.; VARGAS, A. C.; DUARTE, M. M.; DUARTE, T.; BALDISSEROTTO, B. *Melaleuca alternifolia* essential oil prevents alterations to purinergic enzymes and ameliorates the innate immune response in silver catfish infected with *Aeromonas hydrophila*. **Microbial pathogenesis**, v. 109, p. 61-66, 2017.
- BARBAS, L. A. L.; MALTEZ, L. C.; STRINGHETTA, G. R.; GARCIA, L. O.; MONSERRAT, J. M.; SILVA, D. T.; SAMPAIO, L. A. Properties of two plant extractives as anaesthetics and antioxidants for juvenile tambaqui *Colossoma macropomum*. **Aquaculture**, v. 469, p. 79-87, 2017.
- BERKA, R. **The transport of live fish**. A review. EIFAC Technical Paper, v. 48. 1986. 52p
- BECKER, A. G.; PARODI, T. V.; HELDWEIN, C. G.; ZEPPENFELD, C. C.; HEINZMANN, B. M.; BALDISSEROTTO, B. Transportation of silver catfish, *Rhamdia quelen*, in water with eugenol and the essential oil of *Lippia alba*. **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 38, n. 3, p. 789-796, 2012.
- BECKER, A. G.; LUZ, R. K.; MATTIOLI, C. C.; NAKAYAMA, C. L.; E SILVA, W. D. S.; LEME, F. D. O. P.; BALDISSEROTTO, B. Can the essential oil of *Aloysia triphylla* have anesthetic effect and improve the physiological parameters of the carnivorous freshwater catfish *Lophiosilurus alexandri* after transport? **Aquaculture**, p. 481, p. 184-190, 2017.
- BIDINOTTO, P. M.; MORAES, G.; SOUZA, R. H. S. Hepatic glycogen in eight tropical freshwater teleost fish: A procedure for field determinations of microsamples. **Boletim Técnico do Cepta**, v.10, p.53-60, 1997.
- CECH JR.; J. J.; BARTHOLOW, S. D.; YOUNG, P. S.; HOPKINS, T. E. Striped bass exercise and handling stress in freshwater: physiological responses to recovery environment. **Transactions of the American Fisheries Society**, v.125, p. 308–320,1996.
- CORREIA, A. M.; PEDRAZZANI, A. S.; MENDONÇA, R. C.; MASSUCATTO, A.; OZÓRIO, R. A.; TSUZUKI, M. Y. Basil, tea tree and clove essential oils as analgesics and anaesthetics in *Amphiprion clarkii* (Bennett, 1830). **Braz. J. Biol.**, v. 78, n. 3, p. 436-442, 2018.
- CHAGAS, E. C., L. D. ARAÚJO, C. H. BOIJINK, L. A. INOUE, L. C. GOMES; F. R. MORAES. Respostas de tambaquis ao estresse por transporte após alimentação com dietas suplementadas com β -glucano. **Biotemas**, v. 25, p. 221-227, 2012.
- FAZIO, F. Fish hematology analysis as an important tool of aquaculture: A review. **Aquaculture**, v. 500, p. 237-242, 2019.
- FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAO) **The State of World Fisheries and Aquaculture**, 2017, p. 243.

- FAGUNDES, M.; URBINATI, E. C. Stress in pintado (*Pseudoplatystoma corruscans*) during farming procedures. **Aquaculture**, v. 276, n. 1-4, p. 112-119, 2008.
- FERNANDES, I. M.; BASTOS, Y. F.; BARRETO, D. S.; LOURENÇO, L. S.; PENHA, J. M. The efficacy of clove oil as an anaesthetic and in euthanasia procedure for small sized tropical fishes. **Brazilian Journal of Biology**, vol. 77, n. 3, p. 444-450, 2017.
- GOMES, L. C.; ARAÚJO-LIMA, C. A. R. M.; ROUBACH, R.; CHIPPARI-GOMES, A. R.; LOPES, N. P. Effect of fish density during transportation on stress and mortality of juvenile tambaqui *Colossoma macropomum*. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 34, n. 1, p. 76-84, 2003.
- GOMES, L. C.; CHAGAS, E.C.; BRINN, R.P.; ROUBACH, R.; COPPATI, C.E.; BALDISSEROTTO, B. Use of salt during transportation of air breathing pirarucu juveniles (*Arapaima gigas*) in plastic bags. **Aquaculture**, v. 256, p. 521-528, 2006.
- INOUE, L. A. K. A.; AFONSO, L. O. B.; IWAMA, G. K.; MORAES, G. Effects of clove oil on the stress response of matrinxã (*Brycon cephalus*) subjected to transport. **Acta Amazonica**, v.35, n.2, p. 289-295, 2005.
- IVERSEN, M.; FINSTAD, B.; MCKINLEY, R. S.; ELIASSEN, R. A. The efficacy of metomidate, clove oil, Aqui-S™ and Benzoak® as anaesthetics in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) smolts, and their potential stress-reducing capacity. **Aquaculture**, v.221, 549-566, 2003.
- IWAMA, G. K.; AFONSO, L. O. B.; VIJAYAN, M. M. Stress in fishes. In: EVANS, D. H.; CLAIBORNE, J. B. **The Physiology of Fishes**. Boca Raton: CRC Press, 2006, p. 319–342.
- KAMALAM, B. S.; PATIYAL, R. S.; RAJESH, M.; MIR, J. I.; SINGH, A. K. Prolonged transport of rainbow trout fingerlings in plastic bags: Optimization of hauling conditions based on survival and water chemistry. **Aquaculture**, v. 480, p. 103-107, 2017.
- LUZ, R. K.; COSTA, L. S. P. A. P., SILVA, R. F., ROSA, P.V. Influência do tempo de transporte para juvenis de pacamã (*Lophiosilurus alexandri*). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 65, n. 6, p. 1895-1898, 2013.
- MARTÍNEZ-PORCHAS, M.; MARTÍNEZ-CÓRDOVA, L. R.; RAMOS-ENRIQUEZ, R. Cortisol and glucose: reliable indicators of fish stress. **Pan-American Journal of Aquatic Sciences**, v. 4, n. 2, p. 158-178, 2009.
- MC MANUS, J.F.A. Histological and histochemical uses of periodic acid. **Stain Technol**, v.23, p.99-108, 1948.
- MORAES, G.; AVILEZ, I. M.; ALTRAN, A. E.; BARBOSA, C. C. Biochemical and hematological responses of the banded knife fish *Gymnotus carapo* (Linnaeus, 1758) exposed to environmental hypoxia. **Brazilian Journal of Biology**, v. 62 n.2, p. 633-640, 2002.
- MOREIRA, A. G., COELHO, A. A., ALBUQUERQUE, L. F., MOREIRA, R. T., & FARIAS, W. R. Eugenol effect as a mitigate agent of stress in transport of Nile tilapia juveniles. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 35, n. 11, p. 893-898, 2015.
- MORON, S.E.; MATOS, P.R.; RAMOS, A.T.; GOMES, M.G.T. Identification of glycoproteins in mucous cells of the gill epithelium of *Colossoma macropomum* after

exposure to organophosphate. **Brazilian Archives of Veterinary Medicine and Zootechnics**, v.70, n.3, p.837-842, 2018.

NEVES, M. D. S.; COUTO, M. V. S.; SOUSA, N. C., SANTOS, R. F. B., TAVARES-DIAS, M.; FUJIMOTO, R. Y. Transport stress in ornamental amazonian armored catfishes *Cochliodon* sp (L145) and *Hypostomus* sp (L28) (Loricariidae). **Fishing Institute Bulletin**, v. 42, n. 4, p. 749-758, 2016.

PARODI, T. V.; CUNHA, M. A.; BECKER, A. G.; ZEPPENFELD, C. C.; MARTINS, D. I.; KOAKOSKI, G.; BARCELLOS, L. G.; HEINZMANN, B. M.; BALDISSEROTTO, B. Anesthetic activity of the essential oil of *Aloysia triphylla* and effectiveness in reducing stress during transport of albino and gray strains of silver catfish, *Rhamdia quelen*. **Fish Physiol. Biochem.**, 40, 323–334, 2014.

PAWAR, H. B.; SANAYE, S. V.; SREEPADA, R. A.; HARISH, V.; SURYAVANSHI, U.; ANSARI, Z. A. Comparative efficacy of four anaesthetic agents in the yellow seahorse, *Hippocampus kuda* (Bleeker, 1852). **Aquaculture**, v. 311, n. 1-4, p. 155-161, 2011.

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

RANZANI-PAIVA, M. J. T.; PÁDUA, S. B.; TAVARES-DIAS, M.; EGAMI, M. **Métodos para análise hematológica em peixes**. 1ª Ed., Maringá: Edum, 2013, 135p.

REIS, Y. S.; LEITE, J. L. R.; ALMEIDA, C. A. L.; PEREIRA, D. S. P.; VIDAL, L. V. O.; ARAUJO, F. G.; FORTES-SILVA, R. New insights into tambaqui (*Colossoma macropomum*) feeding behavior and digestive physiology by the self-feeding approach: effects on growth, dial patterns of food digestibility, amylase activity and gastrointestinal transit time. **Aquaculture**, v. 498, p. 116-122, 2019.

REZENDE, F. P.; PASCOAL, L. M.; VIANNA, R. A.; LANNA, E. A. T. Sedation of nile tilapia with essential oils: tea tree, clove, eucalyptus, and mint oils. **Revista Caatinga**, v. 30, n. 2, p. 479-486, 2017.

SACCOL, E. M. H.; LONDERO E. P.; BRESSAN C. A.; SALBEGO J.; GRESSLER L. T., SILVA L. V. F.; OLIVEIRA R. B.; LLESUY S. F.; BALDISSEROTTO B.; PAVANATO M. A. Oxidative and biochemical responses in *Brycon amazonicus* anesthetized and sedated with *Myrcia sylvatica* (G. Mey.) DC. and *Curcuma longa* L. essential oils. **Veterinary Anaesthesia and Analgesia**, v. 44, n.3 p.1467-2987, 2018.

SAMPAIO, F. D.; FREIRE, C. A. An overview of stress physiology of fish transport: changes in water quality as a function of transport duration. **Fish and Fisheries**, v. 17, n. 4, p. 1055-1072, 2016.

SILVA, C. A. D.; FUJIMOTO, R. Y. Tambaqui growth in response to stocking density in cages. **Acta Amazonica**, v.45, n.3, p. 323-332, 2015.

SILVA, H. N. P.; SOUSA, E. M. O.; MAIA, J. L. S.; PINHEIRO, M. T. L.; LAMEIRÃO, S. V. O. C.; MOURÃO, R. H. V.; SILVA, L. V. F. *Lippia alba* (Verbenaceae) hydrolate as sedative of tambaqui (*Colossoma macropomum*) juveniles in simulated transport conditions. **Aquaculture Research**, v. 49, n. 1, p. 128-134, 2018.

- SOARES, E. C.; ANJOS, G. M.; LINO, J. J. S.; BARBOSA, J. M.; SANTOS, N. L.; SANTOS, R. B.; ALBUQUERQUE, Á. D. A. Estresse no transporte de juvenis de tambaqui e tilápia-do-nilo. **Revista Brasileira de Engenharia de Pesca**, v. 4, n. 2, p. 79-88, 2009.
- SOUZA, C. F.; BALDISSERA, M. D.; SILVA, L. D. L.; GEIHS, M. A.; BALDISSEROTTO, B. 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**, v. 486, p. 217-223, 2018.
- SCHWAIGER, J.; WANKE, R.; ADAM, S.; PAWERT, M.; HONNEN, W.; TRIEBSKORN, R. The use of histopathological indicators to evaluate contaminant-related stress in fish. **Journal of Aquatic Ecosystem Stress and Recovery**, v. 6, n. 1, p. 75-86, 1997.
- TACCHI, L., LOWREY, L., MUSHARRAFIEH, R., CROSSEY, K., LARRAGOITE, E. T., SALINAS, I. Effects of transportation stress and addition of salt to transport water on the skin mucosal homeostasis of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, v. 435, p. 120-127, 2015.
- WARISTHA, A; KINGKAEW, W.; KUMTHORN, T. Acute Toxicity of Clove Oil and Effects on Histopathological Changes in Gill of Siamese fighting Fish *Betta Splendens*. **Research Journal of Chemistry and Environment**, v.15, n.2, p. 139-146, 2011.
- WENDELAAR-BONGA, S. E. The stress response in fish. **Physiological Reviews**, v. 77, n. 3, p. 591-625, 1997.
- WOJTASZEK, J.; DZIEWULSKA-SZWAJKOWSKA, D.; LOZINSKA-GABSKA, M.; ADAMOWICZ, A.; DZUGAJ, A. Hematological effects of high dose of cortisol on the carp (*Cyprinus carpio L.*): cortisol effect on the carp blood. **General and Comparative Endocrinology**, New York, v. 125, n. 2, p. 176- 183, 2002.
- VIDAL, L. V. O; ALBINATI, R. C. B.; ALBINATI, A. C. L., LIRA, A. D.; ALMEIDA, T. R.; SANTOS, G. B. Eugenol como anestésico para a tilápia-do-nilo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.43, n.8, p.1069-1074, 2008.
- VIJAYAN, M. M.; MOON, T. W. Acute handling stress alters hepatic glycogen metabolism in food deprived rainbow-trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Canadian Journal of aquatic science**, v.49, p.2260-2266, 1992.
- ZAHL, I. H.; SAMUELSEN, O.; KIESSLING, A. Anaesthesia of farmed fish: implications for welfare. **Fish Physiology and Biochemistry**, v.38, p.201-218, 2012.
- ZEPPENFELD, C. C.; TONI, C.; BECKER, A. G.; MIRON, D. S.; PARODI, T. V.; HEINZMANN, B. M.; CUNHA, M. A. Respostas fisiológicas e bioquímicas do bagre prateado, *Rhamdia quelen*, após o transporte em água com óleo essencial de *Aloysia triphylla* (L'Herit) Britton. **Aquicultura**, v. 418, p. 101-107, 2014.