

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MATO GROSSO DO SUL
UNIDADE UNIVERSITÁRIA DE AQUIDAUANA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

POTENCIAL ANESTÉSICO DO ÓLEO ESSENCIAL *Zingiber
officinale* DURANTE O MANEJO E TRANSPORTE DE PACU
Piaractus mesopotamicus

Acadêmica: Anuzhia Paiva Moreira

Aquidauana-MS
Abril/ 2022

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MATO GROSSO DO SUL
UNIDADE UNIVERSITÁRIA DE AQUIDAUANA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

POTENCIAL ANESTÉSICO DO ÓLEO ESSENCIAL *Zingiber officinale* DURANTE O MANEJO E TRANSPORTE DE PACU
Piaractus mesopotamicus

Acadêmica: Anuzhia Paiva Moreira
Orientadora: Prof.^a Dr^a Cristiane Meldau de Campos Amaral

“Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Zootecnia, área de concentração em Produção Animal no Cerrado-Pantanal, da Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Zootecnia”

Aquidauana-MS
Abril/ 2022

M836p Moreira, Anuzhia Paiva

Potencial anestésico do óleo essencial *zingiber officinale* durante o manejo e transporte de pacu *piaractus mesopotamicus* / Anuzhia Paiva Moreira. – Aquidauana, MS: UEMS, 2022.

60 p.

Dissertação (Mestrado) – Zootecnia – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, 2022.

Orientadora: Prof. Dra. Cristiane Meldau de Campos.

1. *Zingiber officinale* 2. Óleo essencial 3. *Piaractus mesopotamicus* I. Campos, Cristiane Meldau de II. Título

CDD 23. ed. - 639.31

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MATO GROSSO DO SUL
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
UNIDADE UNIVERSITÁRIA DE AQUIDAUANA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO EM PRODUÇÃO ANIMAL**

ANUZHIA PAIVA MOREIRA

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, área de concentração em Produção Animal, como requisito para obtenção do grau de Mestre em Zootecnia.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 31/01/2022.



Dra. Cristiane Fátima Meldau de Campos Amaral (Orientadora)



Dra. Deliane Cristina Costa, UEMS
(via videoconferência)



Dra. Michelly Pereira Soares, UFSCAR
(via videoconferência)

Dedico este trabalho a Deus, à minha família, à universidade, à minha orientadora e ao meu grupo de laboratório que fizeram parte da realização desse projeto.

SUMÁRIO

RESUMO.....	viii
ABSTRACT.....	ix
CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	1
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	2
2.1 Anestésicos	2
2.2 <i>Zingiber officinale</i>	4
2.3 Benefícios do uso de óleos essenciais no transporte de peixes.....	5
2.4 <i>Piaractus mesopotamicus</i>	6
3. OBJETIVOS	6
3.1 Objetivo Geral.....	6
3.2 Objetivos Específicos	6
4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	7
CAPÍTULO 2 – PROPRIEDADES ANESTÉSICAS DE <i>Zingiber officinale</i> NOS JUVENIS DE PACUS.....	14
1. INTRODUÇÃO	15
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	16
2.1 Condições experimentais	16
2.2 Óleo essencial e composição	17
2.3 Análises hematológicas	18
2.4 Determinação dos componentes bioativos no plasma.....	18
2.5 Análises estatística	19
3. RESULTADOS	19
3.1 Indução e recuperação anestésica	19
3.2 Variáveis hematológicas	20
4. DISCUSSÃO	22
5. CONCLUSÃO	26
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	26

CAPÍTULO 3 – ÓLEO ESSENCIAL DE GENGIBRE COMO ATENUADOR DE ESTRESSE NO TRANSPORTE DE JUVENIS DE PACU.....	33
1. INTRODUÇÃO	34
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	36
2.1 Parâmetros físico-químicos da água.....	36
2.2 Análises hematológicas.....	36
2.3 Determinação dos componentes bioativos no plasma, filé e no fígado.....	37
2.4 Análise estatística.....	38
3. RESULTADOS.....	38
4. DISCUSSÃO.....	41
5. CONCLUSÃO.....	44
6. REFERÊNCIAS.....	45
CAPÍTULO 4 – CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	49

LISTA DE TABELAS

Capítulo 1 – Considerações Gerais

Tabela 1 – Estágios de anestesia e recuperação em peixes	3
---	---

Capítulo 2 – Propriedades anestésicas de *Zingiber officinale* nos juvenis de pacus

Tabela 1 – Efeito do anestésico de OE de <i>Zingiber officinale</i> no perfil hematológico e glicose do <i>Piaractus mesopotamicus</i>	20
---	----

Tabela 2 – Componentes residuais no plasma de pacus expostos à solução anestésica de OE de <i>Zingiber officinale</i>	21
--	----

Capítulo 3 – Óleo essencial de gengibre como atenuador de estresse no transporte de juvenis de pacu

Tabela 1 – Efeito do anestésico <i>Zingiber officinale</i> na glicose, série vermelha e índices hematimétricos do <i>Piaractus mesopotamicus</i> durante o transporte.....	39
---	----

Tabela 2 – Perfil leucocitário de <i>Piaractus mesopotamicus</i> sob o uso do anestésico <i>Zingiber officinale</i>	40
--	----

Tabela 3 – Concentração dos compostos do óleo essencial de <i>Zingiber officinale</i> no plasma dos pacus.....	40
---	----

Tabela 4 – Concentração dos compostos do óleo essencial de <i>Zingiber officinale</i> no filé dos peixes.....	41
--	----

Tabela 5 – Concentração dos compostos do óleo essencial de <i>Zingiber officinale</i> no fígado dos peixes.....	41
--	----

LISTA DE FIGURAS

Capítulo 2 – Propriedades anestésicas de *Zingiber officinale* nos juvenis de pacus

Figura 1. A - Tempo de indução de *Piaractus mesopotamicus* expostos à solução de OEZ. B - Tempo de recuperação de *Piaractus mesopotamicus* expostos à solução de OEZ.

Fonte: Elaborado pelo autor.....20

Figura 2. Composições químicas do óleo essencial de *Zingiber officinale* (OEZ) determinadas por cromatografia gasosa - espectrometria de massa (GC-MS).

Fonte: Elaborado pelo autor.....22

Capítulo 3 – Óleo essencial de gengibre como atenuador de estresse no transporte de juvenis de pacu

Figura 1. Efeito do *Zingiber officinale* nas variáveis de qualidade de água em juvenis de pacu antes e após o transporte.....39

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

OE – Óleo essencial

OEZ – Óleo essencial de *Zingiber officinale*

RESUMO

Os óleos essenciais têm sido alvo de estudo, devido suas propriedades atenuadoras de estresse. Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar o uso de *Z. officinale* (OEZ), uma planta medicinal facilmente encontrada no Brasil, como agente anestésico e antiestresse. Ao total foram utilizados 116 pacus com peso médio de $32,26 \pm 7,86$ g. O experimento foi dividido em dois ensaios: o primeiro testou propriedades anestésicas de gengibre nos juvenis de pacus. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com oito peixes por tratamento totalizando, 32 animais. Os pacus foram transferidos para aquários contendo 6 L de água com as respectivas concentrações do anestésico 300, 400 e 500 mg L⁻¹ diluídas em etanol (95% 1:10). Para a avaliação do tempo da indução e recuperação do anestésico os peixes foram testados individualmente com uso de cronômetros, em banho de imersão com OEZ, e depois em aquários contendo água livre do OE. Na indução os peixes foram observados até apresentar ausência total de movimento. Todos os animais foram submetidos à biometria e à colheita de sangue por meio da venopunção caudal. Houve diferença significativa entre os tratamentos em relação ao tempo de indução ($p < 0.05$). No segundo ensaio, os pacus foram submetidos ao transporte em embalagens plásticas com OEZ os peixes com peso médio de $31,39 \pm 9,6$ g foram divididos em quatro tratamento com três repetições com 7 exemplares em cada embalagem plástica com 4 litros de água e 6 L de oxigênio puro os tratamentos eram: controle que não recebeu a adição do OEZ; 10 mg L⁻¹; 20 mg L⁻¹ e 30 mg L⁻¹ da solução anestésica do OEZ. Após o transporte de 2h, o sangue foi colhido por meio da venopunção caudal para análises hematológicas. Amostras do plasma, filé e fígado foram colhidas (n= 20) para quantificação dos compostos do OEZ, por cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massa. A utilização dos compostos bioativos do óleo essencial de OEZ são capazes de induzir anestesia em pacu sem afetar os parâmetros hematológicos, mas diminui os neutrófilos circulantes. OEZ atenuou as respostas de estresse dos juvenis de pacu após transporte e contribuiu positivamente para manutenção da qualidade da água durante o transporte. Os resultados deste estudo contribuíram para o desenvolvimento de bioprodutos para o uso na piscicultura, colaborando com o fortalecimento e a consolidação da produção. Portanto, espera-se com os resultados gerados possa haver uma redução das perdas econômicas em decorrência do estresse imposto aos peixes cultivados e evitar a dependência da utilização de quimioterápicos e antibióticos sintéticos.

Palavras-chave: Bem-estar, Gengibre, Indução anestésica, Manejo na piscicultura, Óleo essencial, Transporte de peixes.

ABSTRACT

Essential oils have been the target of study due to their stress relieving properties. Thus, the objective of this study was to evaluate the use of *Z. officinale* (EOZ), a medicinal plant easily found in Brazil, as an anesthetic and anti-stress agent. A total of 116 pacus were used with mean weight of 32.26 ± 7.86 g. The experiment was divided in two trials: the first tested the anesthetic properties of ginger on juvenile pacu. The experimental design was entirely randomized, with eight fish per treatment for a total of 32 animals. Pacus were transferred to tanks containing 6 L of water with the respective concentrations of the anesthetic 300, 400, and 500 mg L⁻¹ diluted in ethanol (95% 1:10). To evaluate the time of induction and recovery from the anesthetic, the fish were tested individually using chronometers, in an immersion bath with EOZ, and then in tanks containing EO-free water. At induction the fish were observed until they presented total absence of movement. All animals were submitted to biometry and blood sampling by caudal venipuncture. There was a significant difference between treatments regarding the induction time ($p < 0.05$). In the second experiment pacu juveniles were standardized by the density of 60 g L⁻¹ per plastic bag. In the second experiment, pacus were subjected to transport in plastic containers with EOZ the fish with a mean weight of 31.39 ± 9.6 g were divided into four treatments with three repetitions with 7 specimens in each plastic container with 4 liters of water and 6 L of pure oxygen the treatments were: control that did not receive the addition of EOZ; 10 mg L⁻¹; 20 mg L⁻¹ and 30 mg L⁻¹ of the EOZ anesthetic solution. After the 2h transport, blood was collected via caudal venipuncture for hematological analyses. Plasma, fillet and liver samples were collected ($n=20$) for quantification of EOZ compounds by gas chromatography coupled to a mass spectrometer. The use of bioactive compounds EOZ was able to induce anesthesia in pacu without affecting hematological parameters, but decreased circulating neutrophils. EOZ attenuated the stress responses of juvenile pacu after transport and contributed positively to maintenance of water quality during transport. The results of this study contributed to the development of bioproducts for use in fish farming, collaborating with the strengthening and consolidation of production. Therefore, it is expected that with the results generated there may be a reduction in economic losses due to the stress imposed on farmed fish and avoid dependence on the use of synthetic chemotherapies and antibiotics.

Keywords: Anesthetic Induction, Essential oil, Fish farming management, Fish transport, Ginger, Welfare.

CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS

1. INTRODUÇÃO

Mundialmente, a aquicultura fornece mais de 50 por cento de pescado para consumo humano. O consumo de peixes e de seus subprodutos por habitante continua a aumentar mais do que o crescimento da população humana (FAO, 2021). O aumento da produção, da comercialização de peixes e o transporte de peixes vivos estão entre as práticas de manejo que mais cresceram nos últimos anos (Becker et al., 2016).

Diversas etapas da cadeia produtiva de peixe constituem-se em fatores estressantes, tais como: a captura, confinamento, manuseio, adensamento e o transporte propriamente dito, e se não for conduzido de maneira correta pode induzir respostas de estresse (primária, secundária e terciária), culminando, entre outras implicações, em consequências negativas sobre o desempenho de crescimento e na resposta imunológica (Valladão et al., 2018).

Anestésicos e sedativos podem ser benéficos em transporte, reduzindo a atividade física do peixe e o estresse durante o manuseio (Rotllant et al., 2001). O transporte de peixes em um sistema fechado, como um saco plástico, pode afetar o suprimento de oxigênio e resultar em uma acumulação de amônia e dióxido de carbono, o que pode se tornar um sério problema para a sobrevivência dos peixes (Becker et al., 2013). O transporte também pode prejudicar os processos metabólicos e interferir nos níveis de glicose, lactato e tecido glicogênico (Pankhurst, 2011).

Com o intuito de minimizar o efeito do estresse oriundo das práticas de manejo o uso de anestésicos se tornou uma alternativa bastante eficaz (Aydin & Barbas, 2020), pois o estresse não apenas causa efeitos deletérios à saúde dos animais, mas também a morte (Barcellos et al., 2006).

Estudos comprovam que os anestésicos oriundos de plantas quando adicionados à água do transporte podem minimizar problemas relacionados ao estresse (Zeppenfeld et al., 2014), por isso, a importância da utilização de anestésicos no transporte, que tem como o intuito reduzir a mobilidade dos peixes, evitando lesões traumáticas e ferimentos (Inoue et al., 2011).

O *Zingiber officinale* (OEZ) é amplamente utilizado na indústria farmacêutica como um medicamento para tratamento e cura de várias doenças, no entanto a maior parte dos estudos sobre essa planta estão concentrados na medicina humana. Atualmente, existem poucos artigos a respeito do gengibre na produção animal, contudo, na aquicultura os trabalhos que envolvem OEZ são concernentes à suplementação desse produto na alimentação dos organismos aquáticos.

Dentre as diversas opções de óleos essenciais o presente estudo optou por utilizar o OEZ, devido as suas inúmeras vantagens tais como: baixo custo de aquisição, pela enorme quantidade de compostos promotores de saúde do gengibre, por ser um produto orgânico e pela sua ampla disponibilidade no mercado. Assim, este é o primeiro trabalho a estudar o potencial do OEZ como anestésico no manejo e transporte de pacu.

O pacu (*Piaractus mesopotamicus*) é nativo da América do Sul e uma das espécies mais produzidas (Valladão et al., 2016), é amplamente utilizado em diversas regiões do Brasil, tendo como objetivo a produção de peixes para a pesca esportiva e para a produção de carne (Furuya et al., 2008). Os critérios para a escolha dessa espécie foram justamente, devido a facilidade para adquirir os juvenis no município de Aquidauana localizada geograficamente no pantanal e também pela rusticidade e adaptabilidade que o pacu possui.

O presente trabalho teve como objetivo explorar o potencial do óleo essencial de gengibre como anestésico para juvenis de pacu durante o transporte e o manejo, com intuito de substituir compostos químicos e sintéticos por componentes naturais oriundos de plantas.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Anestésicos

Os anestésicos são compostos por um grande número de moléculas, de diferentes estruturas químicas capazes de bloquear temporariamente a condução do estímulo nervoso (Ribeiro et al., 2009). Assim, para que os anestésicos produzam o efeito desejado é necessário que atravessem todas as membranas protetoras até atingir as membranas neuronais (Alves, 2013).

Comercialmente existem dois tipos de anestésicos: os de origem sintética e os naturais. Os componentes sintéticos mais utilizados para anestésiar os peixes incluem: metanosulfonato de tricaína (MS-222) (Skar et al., 2017), etanol fenoxídico (Bahrekazemi & Yousefi, 2017), e etomidato (Readman et al., 2017). Os anestésicos naturais são: *Lippia alba*; *Ocimum gratissimum* entre outros (Spanghero et al., 2019). Entre os anestésicos mais utilizados na aquicultura se destacam a benzocaína e o eugenol (Bertozi Junior et al., 2014).

Entretanto, alguns desses anestésicos sintéticos apresentam alto custo de aquisição, pequena margem de segurança, alterações em parâmetros fisiológicos dos peixes como modificação da função cardiovascular e respiratória, aumento do lactato, níveis elevados de catecolaminas e inibição da síntese de cortisol, além de deixar resíduos nos peixes (Aydin & Barbas, 2020). Conforme, demonstrado na tabela 1 os estágios de anestesia são classificados em: 1 – diminuição do movimento opercular; 2 – início de perda de equilíbrio, caracterizado pela natação lateral; 3 – perda total de equilíbrio e 4 – perda total de reação ao estímulo (Woody et al., 2002).

A anestesia pode diminuir a atividade do estresse ou dor, taxa metabólica, procura de oxigênio, e facilitar o manejo (Martins et al., 2017). O anestésico ideal deve produzir uma anestesia rápida (1-5 min) e também uma recuperação rápida (< 5 min), além disso esse produto precisa ter um baixo custo, fácil de utilizar, solúvel em água, e não deixar resíduos em peixes, humanos, ou no ambiente (Brown, 2011; Weber et al., 2009).

Tabela 1. Estágios de anestesia e recuperação em peixes.

Estágio de anestesia	Descrição do comportamento
Sedação leve	Perda de reação a movimentos visuais e ao toque
Anestesia leve	Perda parcial do equilíbrio
Anestesia profunda	Perda total do equilíbrio
Anestesia cirúrgica I	Diminuição dos movimentos operculares
Anestesia cirúrgica II	Mínimo movimento opercular, o peixe fica estático
Colapso medular	Overdose (dose em excesso) ou tempo excessivo de anestesia
Recuperação	Recuperação do equilíbrio e natação normal

Fonte: Gomes et al., 2001.

É notório o benefício dos anestésicos para o manejo de peixes, no entanto a eficácia dos anestésicos depende de vários fatores importantes tais como: qualidade

da água, que pode influenciar diretamente em cada estágio anestésico, a temperatura, a turbidez da água e a quantidade de água (Hoskonen, 2004).

2.2 *Zingiber officinale*

Os produtos vegetais têm sido amplamente utilizados na aquicultura, pois estimulam a taxa de crescimento, o sistema imunitário, devido às suas moléculas ativas tais como alcalóides, terpenóides, saponinas e componentes flavonoides. Contudo, ainda há necessidade de realização de mais estudos voltados para os efeitos dos extratos de plantas a longo prazo sobre a fisiologia dos peixes e os diferentes fatores relacionados a saúde (Reverter et al., 2017).

O interesse por fitoterápicos nos últimos anos aumentou no mundo inteiro, devido ao seu custo relativamente baixo, fácil preparação e por causar efeitos colaterais limitados sobre os animais (Van Hai, 2015). Similar à medicina humana, o uso de plantas medicinais no manuseio e tratamento ou prevenção de doenças comuns na criação de animais é uma atividade ancestral, que se prolonga por gerações e ainda hoje está em uso (Bandeira et al., 2017).

Os óleos essenciais têm apresentado bons resultados, principalmente para as espécies da família Verbenaceae como *Lippia alba*, *Lippia origanoides*, *Lippia sidoides* e *Aloysia triphylla* (Toni et al., 2014; Silva et al., 2019), da família Lamiaceae como *Ocimum gratissimum*, *Mentha piperita* e *Mentha arvensis* (Boijink et al., 2016; Spanghero et al., 2019). Recentemente, a maior parte dos estudos científicos tem-se concentrado na utilização de ervas medicinais, devido as inúmeras vantagens que estas possuem tais como: a sustentabilidade e menos efeitos colaterais em relação aos outros produtos. Dentre estas se destaca o gengibre (*Zingiber officinale roscoe*) que é uma erva medicinal comestível (Thanikachalam et al., 2010).

As propriedades promotoras de saúde do gengibre podem estar relacionadas com a presença de diferentes compostos bioativos encontrados em rizomas de gengibre incluem terpenos, oleoresina, zingiberol, zingiberona, zingibereno, zingerona e paradol (Jesudoss et al., 2017). O rizoma do gengibre é amplamente utilizado como agente aromatizante de alimentos ou especiarias para melhorar o sabor dos alimentos, além da sua importância medicinal (Aruoma et al., 1993).

A maioria das pesquisas científicas apontam o efeito positivo do gengibre e de seus compostos no crescimento, sistema imunitário, função antioxidante e efeitos anestésicos em espécies de peixes (Sukumaran et al., 2016). O gengibre é rico em vários constituintes químicos, incluindo compostos fenólicos, ácidos orgânicos, polissacarídeos, fibra bruta e lipídios. Os benefícios do gengibre são principalmente atribuídos aos seus compostos fenólicos, tais como gengibreóis e shogaols. De acordo com pesquisas o gengibre possui múltiplas atividades biológicas, incluindo atividades antioxidantes, anti-inflamatórias, antimicrobianas, anticancerígenas, neuroprotetores, cardiovasculares, respiratórias e entre outras (Mao et al., 2019).

2.3 Benefícios do uso de óleos essenciais no transporte de peixes

A maioria dos produtores de organismos aquáticos utilizam antibióticos ou medicamentos químicos para lidar com agentes patogênicos, reduzir o estresse, e aumentar a resistência do peixe contra doenças (Dügenci et al., 2003). Contudo, devido ao efeito colateral desses medicamentos a procura pela exclusão desses compostos vem aumentando por substâncias naturais para estimular o sistema imunitário do peixe através dos tratamentos fitoterápicos.

Os óleos essenciais (OE) são extratos oleosos aromáticos e voláteis obtidos de materiais vegetais, incluindo flores, botões, raízes, casca e folhas por meio de fermentação, extração ou destilação a vapor. Os óleos essenciais são usados como uma alternativa para indução anestésica em peixes (Cunha, 2010). No Brasil os mais utilizados são: o eugenol, óleo de cravo, e o mentol, pois são amplamente comercializados e apresentam baixo custo (Simões & Gomes, 2009).

O estresse mecânico juntamente com uma baixa qualidade de água pode afetar negativamente o transporte de peixe. A utilização de anestésicos à base de plantas em concentrações sedativas durante o transporte de peixe é uma ferramenta importante para reduzir a sensibilidade a estímulos visuais e mecânicos, atividade natatória e stress (Souza et al., 2019).

Em geral, os OEs em concentrações sedativas reduzem as taxas metabólicas, a magnitude da resposta ao estresse e evitam danos físicos nos peixes (Hohlenwerger et al., 2017). Extrato de folha de goiaba (*Psidium guajava*) a uma concentração de 0,25% é eficaz como agente redutor de estresse para o transporte de tilápia (Suwandi

et al., 2013). No entanto, estudos comprovam que o agente natural mais eficaz para anestesia dos peixes é o óleo de cravo-da-índia (*Eugenia aromaticum*) (Fernandes et al., 2017), pois, este é altamente lipofílico e por isso penetra rapidamente no epitélio das guelras e uma vez na circulação sanguínea, é absorvido pelos tecidos corporais (Javahery et al., 2012).

2.4 *Piaractus mesopotamicus*

O pacu (*Piaractus mesopotamicus*) é uma espécie muito relevante na piscicultura, pois apresenta baixo custo com alimentação, devido ao seu hábito alimentar herbívoro e onívoro (Dal Pai et al., 2000). Além disso, é extremamente comercializada no Brasil no setor da aquicultura (Souza et al., 2003), uma vez que é altamente valorizada devido à sua aceitação pelos consumidores e também pela sua taxa de crescimento elevada.

Em seu habitat natural os juvenis sobrevivem em temperaturas entre 20 e 30°C e a pH 6-8 (Abimorad et al., 2009), enquanto a temperatura ótima para o crescimento é de 23-28°C (Martinez et al., 2006). Estes peixes são encontrados em profundidades de até 20 m (Dal Pai et al., 2000).

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Os objetivos deste trabalho foram avaliar o efeito da inclusão de diferentes concentrações do anestésico OEZ no transporte e no manejo dos peixes, bem como avaliar o efeito da taxa de sobrevivência; o perfil hematológico; bioquímico e metabólico de pacu *Piaractus mesopotamicus* submetido ao experimento.

3.2 Objetivos Específicos

- Avaliar a eficiência do óleo essencial de gengibre *Zingiber officinale* como um anestésico para juvenis de pacu;
- Avaliar a viabilidade do uso do OEZ na aquicultura brasileira;

- Avaliar o perfil hematológico, bioquímico e metabólico dos pacus submetido ao transporte com anestésico;
- Avaliar o efeito da taxa de sobrevivência dos peixes submetidos ao transporte por diferentes horas com diferentes doses de OEZ.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABIMORAD, E.G.; FAVERO, G.C.; CASTELLANI, D.; GARCIA, F.; CARNEIRO, D.J. Dietary supplementation of lysine and/or methionine on performance, nitrogen retention and excretion in Pacu *Piaractus mesopotamicus* reared in cages. **Aquaculture** 295, 266–270, 2009.

ALVES, R. Anestésicos locais. (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) Dissertação – Universidade Fernando Pessoa, Porto, 51f. 2013.

AYDIN, B.; BARBAS, L. A. L. Sedative and anesthetic properties of essential oils and their active compounds in fish. **Aquaculture**, v. 520, p.2-9, 2020.

ARUOMA, O. I.; MURCIA, A.; BUTLER, J.; HALLIWELL, B. Evaluation of the antioxidant and prooxidant actions of gallic acid and its derivatives. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 41, p.1880–1885, 1993.

BAHREKAZEMI, M., N. YOUSEFI. Plasma enzymatic, biochemical and hormonal responses to clove oil, 2-phenoxy ethanol, and MS-222 exposed to Caspian brown trout (*Salmo trutta caspius*, kessleri). **Iranian Journal of Aquatic Animal Health**, 3: 47 –60, 2017. Disponível em: <https://doi:10.18869/acadpub.ijaah.3.1.47>. Acesso em: 05 de novembro de 2021.

BANDEIRA, G.; PÊS, T. S.; SACCOL, E. M. H.; SUTILI, F. J.; ROSSI, W.; MURARI, A. L.; ROSSI, W.R.J.; MURARI, A.L.; HEINZMANN, B.M.; PAVANATO, M.A.; AGUEDA, C.V.; SILVA, L.L.; BALDISSEROTTO, B. Potential uses of *Ocimum gratissimum* and *Hesperozygis ringens* essential oils in aquaculture. **Industrial Crops and Products**, p.484–491, 2017.

BARCELLOS, L.; KREUTZ, L.; QUEVEDO, R. Previous chronic stress does not alter the cortisol response to an additional acute stressor in jundiá (*Rhamdia quelen* Quoy and Gaimard) fingerlings. **Aquaculture** 253:317–32, 2006.

BARTON, B.A. Stress in fishes: a diversity of responses with particular reference to change in circulating corticosteroids. **Integrative and Comparative Biology**, 42:517–525, 2002.

BECKER, A.G.; CUNHA, M.A.; GARCIA, L.O.; ZEPPENFELD, C.C.; PARODI, T.V.; MALDANER, G.; MOREL, A.F.; BALDISSEROTTO, B. Efficacy of eugenol and the methanolic extract of *Condalia buxifolia* during the transport of the silver catfish *Rhamdia quelen*. **Neotropical Ichthyology**, v.11, p.675–681, 2013.

BECKER, A. G.; PARODI, T.V.; ZEPPENFELD, C.C.; SALBEGO, J.; CUNHA, M.A.; HELDWEIN, G.C.; LORO, V.L.; HEINZMANN, B.M.; BALDISSEROTTO, B. Pre-sedation and transport of *Rhamdia quelen* in water containing essential oil of *Lippia alba*: metabolic and physiological responses. **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 42, p. 73–81, 2016.

BERTOZI JÚNIOR, M.; DIEMER, O.; NEU, H.D.; BITTENCOURT, F.; BOSCOLO, W.R.; FEIDEN, A. Benzocaína e eugenol como anestésicos para juvenis de *Pimelodus britskii* (mandi-pintado). **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, vol. 9, n. 1, p. 134- 138, 2014.

BICUDO, A.J.A.; SADO, R.Y.; CYRINO, J.E.P. Growth performance and body composition of pacu *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg 1887) in response to dietary protein and energy levels. **Aquaculture Nutrition**, p. 213–222, 2010.

BOIJINK, C. L.; QUEIROZ, C.A.; CHAGAS, E.C.; CHAVES, F.C.M.; INOUE, L.A.K.A. Anesthetic and anthelmintic effects of clove basil (*Ocimum gratissimum*) essential oil for tambaqui (*Colossoma macropomum*). **Aquaculture**, v. 457, p. 24– 375 28, 2016.

BROWN, L. A. Anaesthesia for fish. **Viet. Fish.**, 8: 68–70, 2011.

BURKA, J. F.; HAMMEL, K.L.; HORSBERG, T.E.; JOHNSON, G.R.; RAINNIE, D.J.; SPEARS, D.J. Drugs in salmonid aquaculture: a review. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics.**, 20: 333–349 (1997). Disponível em: <https://doi.org/10.1046/j.1365-2885.1997.00094.x>. Acesso em: 15 de setembro de 2021.

CUNHA, M. A. Anesthesia of silver catfish with eugenol: time of induction, cortisol response and sensory analysis of fillet. **Ciência Rural**, v.40, n.10, p.2107-

2114, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0103-84782010005000154>. Acesso em: 23 de agosto de 2021.

DAL PAI V.; PAI-SILVA, M.D.; CARVALHO, E.D.; FUJIHARA C.Y.; GREGORIO A.E.; CURI, P.R. Morphological, histochemical and morphometric study of the myotomal muscle tissue of the Pacu (*Piaractus mesopotamicus* Holmberg 1887: Serrasalminae, Characidae, Teleostei). Anatomia, Histologia, Embryologia. **Journal of Veterinary Medicine Series C**, 29, 283–289, 2000.

DÜGENCI, S.K.; ARDA, N.; CANDAN, A.; Some medicinal plants as immunostimulant for fish. **Journal Ethnopharmacol**, 88(1):99-106, 2003.

FAO – Food and Agriculture Organization of the United Nations. FAO Aquaculture News (FAN). Rome, 2021.

FERNANDES, I.M.; BASTOSB, Y.F.; BARRETOB, D.S.; LOURENÇOC, L.S.; PENHAB, J.M. The efficacy of clove oil as an anaesthetic and in euthanasia procedure for small-sized tropical fishes. **Brazilian Journal of Biology**, 77(3), 444- 450, 2017.

FURUYA, W.M.; MICHELATO, M.; SILVA, L.C.R.; SANTOS, L.D.; SILVA, T.S.C.; SCHAMBER, C.R.; VIDAL, L.V.O.; FURUYA, V.R.B. Fitase em rações para Juvenis de pacu (*Piaractus mesopotamicus*). Boletim do Instituto de Pesca, São Paulo, 34 (4): 489 - 496, 2008.

GOMES, L.C.; CHIPPAR-GOMES, A.R.; LOPES, N.P.; ROUBACH, R.; ARAUJO-LIMA, C.A.R.M. Efficacy of benzocaine as an anesthetic in juvenile tambaqui *Colossoma macropomum*. **Journal of the World Aquaculture Society**, Baton Rouge, 32(4): 426-431, 2001.

HOHLENWERGER, J.C., BALDISSEROTTO, B., COUTO, R.D., HEINZMANN, B.M., DA SILVA, D.T., CARON, B.O., SCHMIDT, D., COPATTI, C.E. Essential oil of *Lippia alba* in the transport of Nile tilapia. **Ciência Rural** 47 (3), 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20160040>. Acesso em: 8 de janeiro de 2022.

HOSKONEN,P.; PIRHONEN, J. Temperature effects on anaesthesia with clove oil in sex temperate-zone fishes. **Journal of Fish Biology**,64: 1136–1142, 2004. <https://doi:10.1111/j.1095-8649.2004.00359.x>. Acesso em: 2 de março de 2021.

INOUE, L.A.K. A.; BOIJINK, C.; RIBEIRO, P.T.; SILVA, A.M.D.; AFFONSO, E.G. Avaliação de respostas metabólicas do tambaqui exposto ao eugenol em banhos anestésicos. **Acta Amazônica**, v.41, n.2, p. 327–332, 2011.

JAVAHERY, S.; NEKOUBIN, H.; MORADLU, A. H. Effect of anaesthesia with clove oil in fish (review). **Fish Physiology. Biochemistry**, 38: 1545–52, 2012.

Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10695-012-9682-5>. Acesso em: 30 de novembro de 2021.

JESUDOSS, V.A.S.; VICTOR, S.; ANTONY SANTIAGO, S.; VENKATACHALAM, K.; SUBRAMANIAN, P. *Zingerone* (ginger extract): antioxidant potential for efficacy in gastrointestinal and liver disease, **Gastrointestinal Tissue**, 289–297, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/B9780-12-805377-5.00021-7>. Acesso em: 25 de outubro de 2021.

MAO, Q.Q.; XIAO, Y.X.; CAO, S.Y.; GAN, R.Y.; CORKE, H.; BETA, T.; LI, H.B. Bioactive Compounds and Bioactivities of Ginger (*Zingiber officinale* Roscoe), **Foods**, v.8, p.185, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/foods8060185>. Acesso em: 10 de outubro de 2021.

MARTINS, M. L. Effect of dietary essential oils of clove basil and ginger on Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) following challenge with *Streptococcus agalactiae*, **Aquaculture**, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture>. Acesso em: 13 de julho de 2021.

MARTINEZ, C.B.R.; AZEVEDO, F.W.; ULBRICHT, E. Toxicidade e efeitos da amônia em peixes neotropicais. In: José Eurico Possebon Cyrino; Elisabeth Criscuolo Urbinati. (Org.). Tópicos Especiais em Biologia Aquática e Aquicultura, pp. 81–95. Jaboticabal, SP: Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia Aquática, 2006.

PANKHURST, N.W. The endocrinology of stress in fish: an environmental perspective. **General and Comparative Endocrinology**, v.170, p.265–275, 2011.

READMAN, G. D.; OWEN, S. F.; KNOWLES, T. G.; MURRELL, J. C. Species specific anaesthetics for fish anaesthesia and euthanasia. **Scientific Reports.**, 7: 7102, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41598-01706917-2>. Acesso em: 3 de julho de 2021.

REVERTER, M.; TAPISSIER-BONTEMPS, N.; SASAL, P.; SAULNIER, D. Use of medicinal plants in aquaculture. In: Austin, B; NEWAJ-FYZUL, A. (Eds.), *Diagnosis and Control of Diseases of Fish and Shellfish*. JohnWiley & Sons Ltd, New Jersey, p.223-261, 2017.

RIBEIRO, F.A.S.; PRETO, B.L.; FERNANDES, J.B.K. Sistemas de criação para o acará- bandeira (*Pterophyllum scalare*). **Acta Scientiarum**, v. 30, p. 459–466, 2009.

ROTLLANT, J.; BALM, P.H.M.; PEREZ-SANCHEZ, J.; BONGA, S.E.W.; TORT, L. Pituitary and interrenal function in gilthead sea bream (*Sparus aurata* L., *Teleostei*)

after handling and confinement stress. **General and Comparative Endocrinology** 121:333–342, 2001.

SKAR, M. W.; HAUGLAND, G.T.; POWELL, M.D.; WERGELAND, H. I.; SAMUELSEN, O.B. Development of anaesthetic protocols for lumpfish (*Cyclopterus lumpus* L.): Effect of anaesthetic concentrations, sea water temperature and body weight. **PLoS ONE**, 12, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0179344>. Acesso em: 13 de agosto de 2021.

SILVA, H. N. P.; CARVALHO, B.C.F.; MAIA, J.L.S.; BECKER, A.G.; BALDISSEROTTO, B.; HEINZMANN, B.M.; MOURÃO, R.H.V.; SILVA, L.V.F. Anesthetic potential of the essential oils of *Lippia alba* and *Lippia origanoides* in Tambaqui juveniles. **Ciência Rural**, v. 49, 2019.

SIMÕES, L.N.; GOMES, L.C. Eficácia do mentol como anestésico para juvenis de tilápiado-nilo (*Oreochromis niloticus*). Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, Belo Horizonte, 61(3): 613-620, 2009.

SOUZA, V.L.; URBINATI E, C.; MARTINS, M.E.G; SILVA, P.C. Avaliação do Crescimento e do Custo da Alimentação do Pacu (*Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887) Submetido a Ciclos Alternados de Restrição Alimentar e Realimentação. **Revista Brasileira Zootecnia** 32, 19 –28, 2003.

SOUZA, A. S. L.; PERET, A.C.; HAMOY, M.; SOUZA, R.A.L.; TORRES, M.F.; BARBAS, L.A.L. Propofol and essential oil of *Nepeta cataria* induce anesthesia and Cardiorespiratory responses. **Aquaculture**, v. 500, p. 160-169, 2019.

SOUZA, A.S.L.; PERET, A.C.; HAMOY, M.; DE SOUZA, R.A.L.; TORRES, M.F.; BARBAS, L.A.L. Propofol and essential oil of *Nepeta cataria* induce anaesthesia and marked myorelaxation in tambaqui *Colossoma macropomum*: Implications on cardiorespiratory responses. **Aquaculture**, 500, 160–169, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.10.017>. Acesso em: 29 de agosto de 2021.

SPANGHERO, D. B. N.; SPANGHERO, E.C.A.M.; PEDRON, J.S.; CHAGAS, E.C.; CHAVES, F.C.M.; ZANIBONI-FILHO, E. Peppermint essential oil as an anesthetic for and toxicity to juvenile silver catfish. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 54, 2019.

SUKUMARAN, V.; PARK, S.C.; GIRI, S.S. Role of dietary ginger *Zingiber officinale* in improving growth performances and immune functions of *Labeo rohita* fingerlings. **Fish Shellfish Immunology**, v.57, p.362- 370, 2016. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/0165-2427\(94\) 90062-0](https://doi.org/10.1016/0165-2427(94) 90062-0). Acesso em: 9 de dezembro de 2021.

SUWANDI, R.; NUGRAHA, R.; ZULFAMY, K.E. Aplikasi ekstrak daun jambu *Psidium guajava* var. pomifera pada proses transportasi ikan nila. *Oreochromis niloticus*. **Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia**, 16(1), 69-78, 2013.

THANIKACHALAM, K.; KASI, M.; RATHINAM, X. Effect of garlic peel on growth, hematological parameters and disease resistance against *Aeromonas hydrophila* in African catfish *Clarias gariepinus* (Bloch) finger lings, Asian Pac. **Journal of Tropical Medicine**, 2010. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S1995-7645\(10\)60149-6](https://doi.org/10.1016/S1995-7645(10)60149-6). Acesso em: 12 de janeiro de 2022.

TONI, C.; BECKER, A.G.; SIMÕES, L.N.; PINHEIRO, C.G.; SILVA, L.L.; HEINZMANN, B.M.; CARON, B.O.; BALDISEROTTO, B. Fish anesthesia: effects of the essential oils of *Hesperozygis ringens* and *Lippia alba* on the biochemistry and physiology of silver catfish (*Rhamdia quelen*). **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 520 40, p. 701-714, 2014.

UEHARA, S.A.; ANDRADE, D.R.; TAKATA, R.; GOMES JÚNIOR, A.V.; VIDAL, M.V. The effectiveness of tricaine, benzocaine, clove oil, and menthol as anesthetics for lambari-bocarra *Oligosarcus argenteus*. **Aquaculture**, v.502, p. 326–331, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.12.054>. Acesso em: 2 de março de 2022.

VALLADÃO, G.M.R.; GALLANI, S.U.; PILARSKI, F. South American fish for continental aquaculture. **Revista Aquacultura**, 2016.

VALLADÃO, G. M. R.; GALLANI, S. U.; PILARSKI, F. South American fish for continental aquaculture. **Reviews in Aquaculture**, v. 10, p. 351-369, 2018.

VAN HAI, N. The use of medicinal plants as immunostimulants in aquaculture: a review. **Aquaculture**, v.446, p.88–96, 2015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.03.014>. Acesso em: 27 de março de 2022.

WEBER, R. A.; PELETEIRO, J. B.; GARCIA MARTIN, L. O.; ALDEGUNDE, M. The efficacy of 2-phenoxyethanol, metomidate, clove oil and MS-222 as anaesthetic agents in the Senegalese sole (*Solea senegalensis* Kaup 1858). **Aquaculture**, 288: 147– 150, 2009. Disponível em: <http://doi:10.1016/j.aquaculture.2008.11.024>. Acesso em: 26 de março de 2022.

WOODY, C.A.; NELSON, J.; RAMSTAD, K. Clove oil as an anesthetic for adult sockeye salmon: field trials. **Journal of Fish Biology**, London, 60: 340-347, 2002.

ZEPPENFELD, C.C.; TONI, C.; BECKER, A.G.; MIRON, D.S.; PARODI, T.V.; HEINZMANN, B.M.; BARCELLOS, L.J.G.; KOAKOSKI, G.; DA ROSA, J.G.S.; LORO, V.L.; CUNHA, M.A.; BALDISSEROTTO, B. Physiological and biochemical responses of silver catfish, *Rhamdia quelen*, after transport in water with essential oil of *Aloysia triphylla* (L'Herit) Britton. **Aquaculture**, v.418, n.19, p.101–107, 2014.

Este artigo foi elaborado de acordo com as normas da Revista: Ciência Rural

CAPÍTULO 2- PROPRIEDADES ANESTÉSICAS DE *ZINGIBER OFFICINALE* NOS JUVENIS DE PACUS

CHAPTER 2- ANESTHETIC PROPERTIES OF *ZINGIBER OFFICINALE* IN PACUS JUVENILES

Anuzhia Paiva Moreira^{1*}, Cristiane Meldau de Campos¹

¹Pós-graduação em Zootecnia, Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, Campus Aquidauana, Brasil.

*anuzhia@hotmail.com

Resumo

O objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial anestésico do óleo essencial de gengibre em pacus. Juvenis de pacus com peso médio de $33,13 \pm 6,13$ g foram transferidos para aquários contendo 6 L de água com as respectivas concentrações do óleo essencial de gengibre 300, 400 e 500 mg L⁻¹ diluídas em etanol (95% 1:10). Todos os animais foram submetidos à biometria e à colheita de sangue. Para a avaliação do tempo da indução e recuperação do anestésico os peixes foram testados individualmente com uso de cronômetros, em banho de imersão com OE de gengibre, e depois em aquários contendo água livre do OE. Na indução os peixes foram observados até apresentar ausência total de movimento. O sangue foi colhido por meio da venopunção caudal para as análises: hematócrito pelo método centrífuga microhematócrito; contagem do número eritrócitos em Câmara de Neubauer, hemoglobina (Hb) e glicose sanguínea (glicose oxidase [GPO]) com o aparelho medidor de Glicose Accu-Chek Active. Para a dosagem sérica de plasma dos componentes do anestésico, o sangue foi centrifugado a 9.000 rpm por 5 minutos a 4°C, e posteriormente armazenamento a -20°C. Houve diferença significativa entre os tratamentos em relação ao tempo de indução ($p < 0.05$). O grupo que recebeu a dosagem de 400 mg L⁻¹ apresentou menor tempo de recuperação dentre os tratamentos. O uso do óleo essencial de *Zingiber officinale* foi capaz de anestésiar os juvenis de pacu em todos os tratamentos, no entanto, a dosagem de 400 mg L⁻¹ de OEZ foi a mais apropriada para os peixes, pois apresentou menor tempo de indução anestésica e também promoveu menor alteração hematológica.

Palavras-chave: Gengibre, Indução anestésica, Manejo na piscicultura, Óleo essencial.

Abstract

The objective of this work was to evaluate the effect of ginger anesthetic in the water during fish handling. Pacu juveniles with a mean weight of 33.13 ± 6.13 g were transferred to tanks containing 6 L of water with the respective concentrations of ginger essential oil 300, 400 and 500 mg L^{-1} diluted in ethanol (95% 1:10). All animals were submitted to biometry and blood sampling. To evaluate the time of induction and recovery from the anesthetic, the fish were tested individually using chronometers, in immersion baths with ginger EO, and then in tanks containing water free of the EO. At induction the fish were observed until they were completely motionless. Blood was collected via caudal venipuncture for the following analyses: hematocrit was performed in a microhematocrit centrifuge; erythrocyte count in a Neubauer Chamber, and hemoglobin (Hb). Blood glucose (glucose oxidase [GPO]) analysis was performed using the Accu-Chek Active glucose meter. For serum plasma dosage of the anesthetic components, blood was centrifuged at 9,000 rpm for 5 minutes at 4°C , and then stored at -20°C . There was a significant difference between treatments regarding the induction time ($p < 0.05$). The group that received the dosage of 400 mg L^{-1} showed the shortest recovery time among the treatments. The use of *Zingiber officinale* essential oil was able to anesthetize pacu juveniles in all treatments. However, the dosage of 400 mg L^{-1} of EOZ was the most appropriate for the fish, as it presented the shortest anesthetic induction time and also promoted the least hematological alteration.

Keywords: Anesthetic induction, Essential oil, Ginger, Management in fish farming.

1. INTRODUÇÃO

O aumento e intensificação dos sistemas de produção de peixes leva a adoção de diferentes tecnologias de manejos para minimizar o estresse imposto aos peixes cultivados. O conhecimento de métodos que permitam intervenções com o mínimo possível de interferência nas funções vitais e fisiológicas dos peixes é importante a fim de que a mortalidade seja mínima durante o transporte ou manejo (Cunha, 2010). O processo de captura é um procedimento muito invasivo seja por redes, anzóis ou puçás, os peixes tendem à fuga, resultando no aumento da concentração de lactato e íons H^{+} no músculo, que podem ser identificados na corrente sanguínea, além de aumentar concentrações de cortisol e glicose (Inoue et al., 2010).

Os anestésicos surgiram como uma ferramenta importante na aquicultura, pois tanto reduzem a mortalidade como o estresse causado pelo manejo (Palic, 2006). Anestésicos são agentes químicos que fazem com que os animais reduzam progressivamente sua atividade e, portanto, são utilizados para prevenir lesões ou respostas de estresse. Os óleos essenciais tem

sido alvo de estudos, pois apresentaram resultados promissores em peixes. O óleo essencial de *Z. officinale* foi capaz de induzir anestesia em *P. reticulatum* (Silva et al., 2020) e em camundongos produziu efeitos analgésicos (Jeena et al., 2013). Portanto, é fundamental identificar os componentes bioativos de *Z. officinale* que podem atuar contra os efeitos do estresse imposto aos peixes cultivados e estabelecer métodos para otimizar seu uso.

Neste contexto, é imprescindível salientar que a eficácia de anestésicos, assim como a resposta a estes, é variável entre diferentes espécies de peixes e também pode sofrer influência tanto de fatores ambientais, como salinidade, temperatura, pH e oxigênio, quanto fatores biológicos como tamanho, peso, saúde, fase de vida, entre outros (Zahl et al., 2012).

Assim, é de suma importância mais estudos a respeito dos anestésicos em peixes que permitam uma recuperação rápida com uma baixa concentração (Kamble et al., 2014), com menos resíduos nos tecidos dos animais, um baixo custo, gerando menor risco para o meio ambiente e a saúde dos peixes (Rezende et al., 2017). O objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial anestésico do óleo essencial de gengibre em juvenis de pacu (*Piaractus mesopotamicus*) e seus efeitos na hematologia e glicose plasmática.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no setor de Piscicultura da UEMS, Aquidauana, MS, Brasil. O presente estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA), sob o protocolo nº 013/2021.

2.1 Condições experimentais

Os peixes foram mantidos para aclimação por uma semana em tanques de 350L com aerador e fluxo de água contínuo, com fornecimento de ração comercial realizado duas vezes ao dia. Antes do início do experimento foi realizado o jejum de 24 h.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC), com oito peixes por tratamento com três repetições totalizando 32 animais. Os juvenis de pacus com peso médio de $33,13 \pm 6,13$ g foram transferidos para aquários contendo 6 L de água com as respectivas concentrações do anestésico OEZ 300, 400 e 500 mg L⁻¹ diluídas em etanol (95% 1:10). O grupo controle foi colocado individualmente no aquário durante 3 minutos com a inclusão de etanol puro 95% sem exposição ao anestésico, com intuito de analisar se somente o etanol iria provocar efeitos anestésicos nos peixes, pois, todos os anestésicos utilizados no experimento foram diluídos em etanol a 95%.

Anteriormente, um experimento piloto foi realizado com o anestésico do OEZ seguindo a mesma diluição, com concentrações mais baixas conforme recomendado pela literatura (Bandeira et al., 2017; Silva et al., 2020): 0, 50, 100 e 200 mg L⁻¹ do OEZ, no entanto nenhum peixe foi anestesiado. Por isso, nesse experimento as doses de OEZ foram maiores.

Para a avaliação do tempo da indução e recuperação do anestésico os peixes foram testados individualmente com uso de cronômetros, em banho de imersão com OEZ, e depois em aquários contendo água livre do OE. Na indução os peixes foram observados até apresentar ausência total de movimento. A cada dois peixes, uma nova solução anestésica foi realizada.

A sedação (perda parcial de equilíbrio sem resposta a estímulos) e a anestesia (perda total de equilíbrio sem resposta a estímulos) foram avaliadas. Os peixes foram monitorados visualmente e também eram capturados para analisar se iriam exprimir movimentos natatórios. Além disso, também foram avaliados os padrões de comportamento para a etapa de anestesia cirúrgica: ausência total de reação, movimentos operculares lentos e irregulares, batimentos cardíacos lentos e perda total de todos os reflexos, conforme descrito por Ross e Ross (2008). Os peixes foram considerados recuperados quando responderam a estímulos externos e apresentaram natação similar aos exemplares do grupo controle (Small et al., 2003). A sobrevivência foi monitorada até 24 h após a indução anestésica.

Na sequência, foram acondicionados individualmente em aquários com água limpa, sem anestésico e com aeração constante, onde foi monitorado o tempo de recuperação, considerado como o período necessário para que os peixes recuperassem a capacidade de manter a posição normal de nado.

2.2 Óleo essencial e composição

O óleo essencial *Zingiber officinale* (gengibre) foi extraído por hidrodestilação por meio de um aparelho de Clevenger. A parte da planta utilizada nesse processo foram os rizomas de *Z. officinale*, pois nessa parte há maior concentração dos componentes do gengibre. Esse procedimento ocorreu integralmente no Laboratório de Plantas Medicinais e Fitoquímica da Embrapa da Amazônia, AM, Brasil. As composições químicas foram determinadas por cromatografia gasosa-espectrometria de massa (GC-MS) no Laboratório de Ecologia Comportamental (LABECO) na Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, Dourados-MS.

2.3 Análises hematológicas

O sangue foi colhido por meio da venopunção caudal com seringas e agulhas descartáveis banhados com os anticoagulantes EDTA a 3% e em seguida transferido para os tubos eppendorf. O hematócrito foi realizado em uma centrífuga microhematócrito seguindo a metodologia de Goldenfarb et al. (1971).

Para contagem do número eritrócitos em Câmara de Neubauer ou (RBC) – Red Blood Cells foram utilizados 5 μ L de sangue de cada peixe amostrado e 1000 μ L (1mL) da solução de formol citrato foram colocadas em um tubo eppendorf, logo após isto a amostra foi homogeneizada por turbilhamento e mantida na geladeira até o momento da leitura com microscópio óptico (400 X). Para a análise de hemoglobina (Hb) foram utilizados 10 μ L de sangue de cada peixe amostrado. As amostras foram homogeneizadas por turbilhamento, centrifugadas a 2000 rpm por 5 minutos e lidas em espectrofotômetro a 540 nm.

A partir dos dados de hematologia foram calculados os índices hematimétricos: volume corpuscular médio (VCM) ($Ht \times 10/Er$), concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) ($Hb \times 100/Ht$) e hemoglobina corpuscular média HCM ($Hb \times 10/Er$) (Wintrobe, 1934; Ranzani-Paiva et al., 2013).

As extensões sanguíneas foram confeccionadas em duplicata de cada animal, secas ao ar e coradas com May Grünwald-Giemsa- Wright para a posterior leitura da contagem diferencial de leucócitos e contagem total de trombócitos e leucócitos. A análise de glicose sanguínea (glicose oxidase [GPO]) foi realizada com o aparelho medidor de Glicose Accu-Chek Active (Tavares- Dias & Moraes, 2004).

2.4 Determinação dos componentes bioativos no plasma

Para a dosagem sérica de plasma foram avaliados zingiberene, bisabolene e o sesquiphellandrene, pois estes são os principais componentes bioativos presentes no gengibre. O sangue foi centrifugado (Centrífuga: Yingtai, Modelo TD4A, 9.000 rpm por 5 minutos a 4°C), posteriormente o plasma foi transferido para microtubos para armazenamento a -20°C até o momento da análise bioquímica.

As análises do plasma para quantificação dos componentes dos óleos essenciais foram realizadas no Laboratório de Ecologia Comportamental (LABECO) na Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, Dourados-MS.

Os ensaios foram feitos em um cromatógrafo a gás (CG-2010 Plus, Shimadzu, Kyoto, Japão) acoplado ao espectrômetro de massas (CG-EM2010 Ultra), usando DB-5 (30 m de comprimento x 0,25 mm diâmetro interno, espessura 0,25 μm), nas seguintes condições: gás hélio (99,999% de pureza e fluxo 1,0 mL min^{-1}); volume da injeção de 1 μL , split (1:20). A temperatura inicial do forno foi de 50°C e aquecimento de 50°C a 280°C a 3°C min^{-1} . As identificações dos compostos foram realizadas utilizando o índice de retenção calculado, empregando o padrão de alcanos lineares ($\text{C}_7\text{-C}_{40}$, Sigma Aldrich com pureza $\geq 98\%$) e comparando estes dados e os espectros de massas das amostras com Adams (2007), além de comparações com a base de dados de massas (Nist, 2013).

2.5 Análise estatística

Foram realizados testes de normalidade de Shapiro-Wilk e teste de homogeneidade de Bartlett. As análises de regressão foram realizadas para ajustar o modelo estatístico ($P < 0,05$), para as análises hematológicas e bioquímicas. E o teste de ANOVA em DIC para análise dos parâmetros de qualidade de água.

3. RESULTADOS

3.1 Indução e recuperação anestésica

No experimento piloto nenhum peixe foi anestesiado, pois o tempo de indução passou de 10 minutos para as concentrações 50, 100 e 200 mg L^{-1} de OEZ. O grupo controle não apresentou qualquer efeito sedativo ou anestésico durante o experimento. No segundo experimento, conforme representado na figura 1 houve uma relação negativa entre o tempo de indução e as concentrações, com diminuição de tempo de indução à medida que aumenta a concentração. No tempo de recuperação houve diferença entre as unidades experimentais ($p < 0.05$). O tempo de recuperação anestésica variou de $211,11 \pm 52,65$ s a $282,51 \pm 98,94$ s.

O grupo que recebeu a dosagem de 400 mg L^{-1} apresentou menor tempo de recuperação, no entanto na indução o grupo que recebeu 500 mg L^{-1} apresentou o menor tempo dentre os demais tratamentos. Os juvenis expostos ao OEZ se recuperaram completamente e não houve mortalidade durante o experimento ou após 24 h de sua realização.

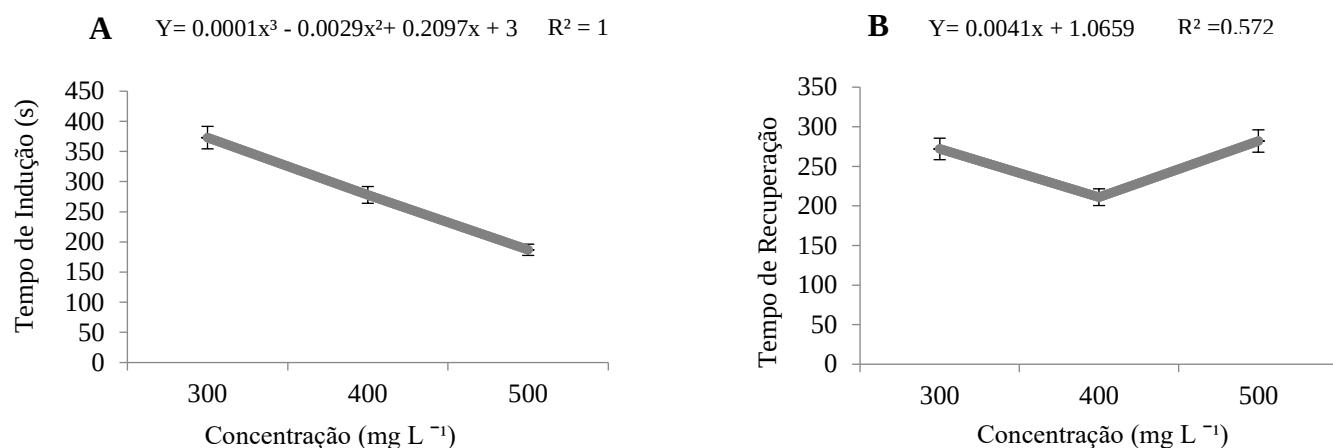


Figura 1. A - Tempo de indução de *Piaractus mesopotamicus* expostos à solução de OEZ. B - Tempo de recuperação de *Piaractus mesopotamicus* expostos à solução de OEZ, com as respectivas equações e valores ($P < 0.05$; $n = 8$ por grupo).

3.2 Variáveis hematológicas

Não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos para glicose, número de eritrócitos, hematócrito e neutrófilos (tabela 1). De acordo com a tabela 1, não houve diferença na hemoglobina entre os tratamentos. As variáveis VCM, HCM e CHCM não apresentaram diferença significativa.

Tabela 1. Efeito do anestésico de OE de *Zingiber officinale* no perfil hematológico e glicose do *Piaractus mesopotamicus*.

Variáveis	Tratamentos				Valor-p	Modelo de regressão	R ²
	Controle	300 mg L ⁻¹	400 mg L ⁻¹	500 mg L ⁻¹			
Monócitos (x10 ³ µL ⁻¹)	12.84± 4.09	14.15 ± 4.42	15.20 ± 5.67	13.05 ± 6.38	0.758	ns	-
Linfócitos (x10 ³ µL ⁻¹)	134.97± 30.37	160.19 ± 49.24	151.45 ± 44.93	144.01 ± 68.72	0.682	ns	-
Neutrófilos (x10 ³ µL ⁻¹)	79.20 ± 16.63	74.88 ± 21.83	77.49 ± 27.88	66.61 ± 33.52	0.219	ns	-
Leucócitos totais (x10 ³ µL ⁻¹)	227,50 ± 45,30	249, 70 ± 72,88	244,40 ± 75,37	223,67 ± 107,26	0.906	ns	-
Trombócitos (x10 ³ µL ⁻¹)	126,15 ± 22,68	112,13 ± 24,55	86,52 ± 32,30	114, 40± 47,78	0.124	ns	-
Glicose (mg L ⁻¹)	109.25 ± 28.61	121.38 ± 16.70	105.50 ± 28.14	127.88 ± 31.76	0.117	ns	-
Eritrócitos (x10 ⁶ µL ⁻¹)	3.69 ± 0.71	3.48 ± 0.94	3.84 ± 0.83	3.49 ± 1.26	0.835	ns	-
Hemoglobina (g dL ⁻¹)	16.87 ± 2.71	15.09 ± 3.08	12.45 ± 4.55	13.27 ± 3.85	0.057	ns	-
Hematócrito (%)	25.13 ± 4.40	28.38 ± 5.27	25.13 ± 4.59	27 ± 8.7	0.316	ns	-
VCM (fL)	68.84 ± 9.72	91.23± 38.45	68.38 ± 18.12	87.23 ± 36.42	0.063	ns	-
HCM (pg)	46.68 ± 8.85	48.21 ± 19.76	32.87 ± 10.25	44.32 ± 18.45	0.241	ns	-
CHCM (g dL ⁻¹)	67.94 ± 10.52	54.91 ± 13.33	51.55 ± 21.95	50.8 ± 9.18	0.125	ns	-

RBC: contagem do número eritrócitos; VCM: volume corpuscular médio; HCM: hemoglobina corpuscular média; CHCM: concentração de hemoglobina corpuscular média. Os valores são expressos como média ± desvio padrão; ns indica que o modelo de regressão não foi significativo.

Com relação aos resíduos analisados no plasma não foi encontrado nenhum dos compostos do óleo de gengibre no controle, pois este tratamento não recebeu o anestésico. O tratamento com 300 mg L⁻¹ apresentou menores concentrações dos componentes zingiberene, bisabolene, sesquiphellandrene em relação aos tratamentos com maior concentração (Tabela 2).

Tabela 2. Componentes residuais no plasma de pacus expostos à solução anestésica de OE de *Zingiber officinale*.

Plasma	Tratamentos				Valor-p	Modelo de regressão	R ²
	Controle	300 mg L ⁻¹	400 mg L ⁻¹	500 mg L ⁻¹			
Zingiberene %		12,25 ± 0,04	16,09 ± 0,08	20,01 ± 0,06	<0.001	Y= 0.0776x + 8.3579	0.999
Bisabolene %		4,94 ± 0,05	6,43 ± 0,05	8 ± 0,04	<0.001	Y= 0.0306x + 0.0002	0.999
Sesquiphellandrene %		7,16 ± 0,05	9,60 ± 0,08	11,21 ± 0,17	<0.001	Y= - 0.00003x ² + 0.0099x + 1.54	1

Os valores são expressos como média ± desvio padrão.

Já na concentração de 500 mg L⁻¹ foram encontradas maiores concentrações de: zingiberene, bisabolene e sesquiphellandrene, conforme demonstrado na tabela 2. O zingiberene e bisabolene apresentaram efeito linear, no entanto o composto sesquiphellandrene apresentou efeito quadrático.

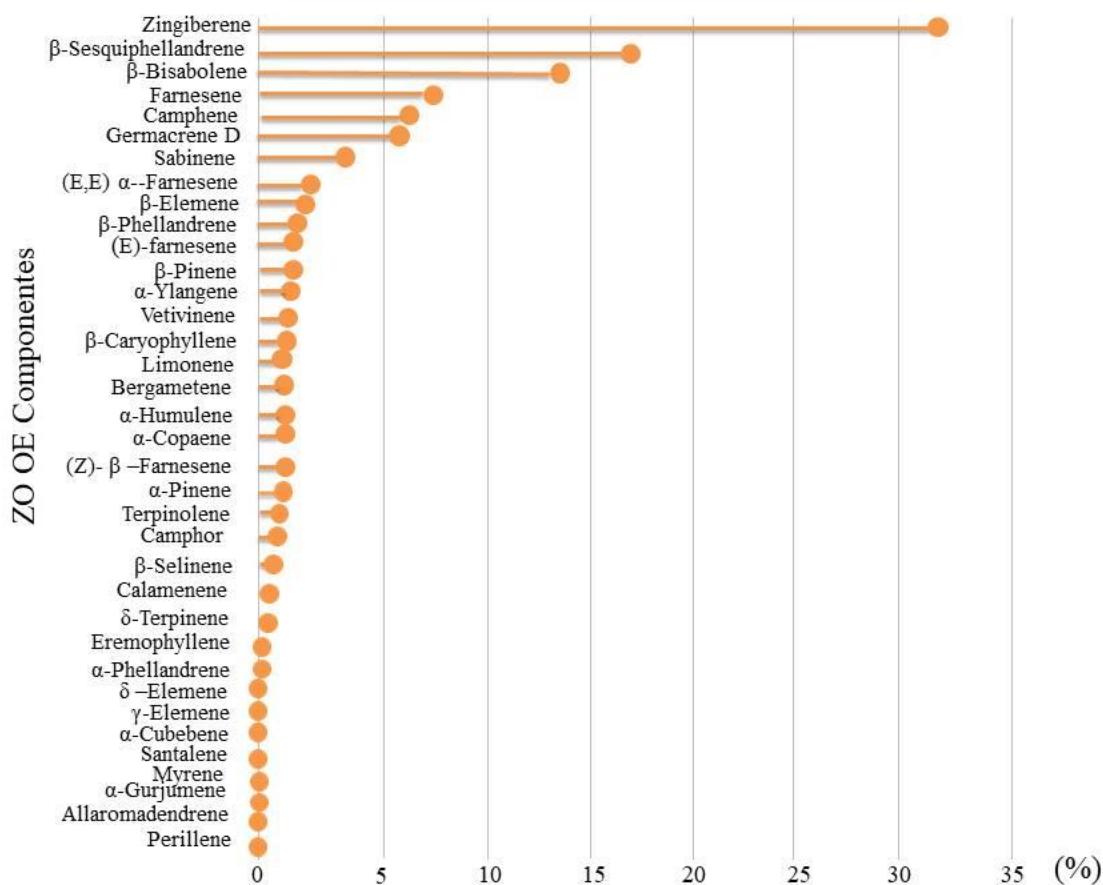


Figura 2. Composições químicas do óleo essencial de *Zingiber officinale* (OEZ) determinadas por cromatografia gasosa - espectrometria de massa (GC-MS).

A composição do OEZ apresentou três principais constituintes: zingiberene (32.27%); β-sesquiphellandrene (18.42%); β-bisabolene (13.93%). Conforme apresentado na figura 2, o zingiberene é o componente principal do gengibre, por isso esse composto sempre aparece com maior porcentagem.

4. DISCUSSÃO

O controle não demonstrou efeito sedativo ou anestésico no decorrer do experimento, no entanto, os peixes apresentaram agitação e natação acelerada. As respostas do controle indicam que um ambiente desconhecido como o aquário pode ser mais estressante do que o estresse por perseguição com rede em ambiente já conhecido (Rossi, 2019). Para um anestésico ser classificado como eficiente deve produzir uma anestesia rápida (1-5 min) e também uma recuperação rápida (< 5 min), além disso esse produto precisa ter um baixo custo, fácil de usar, solúvel em água, e não deixar resíduos em peixes, humanos, ou no ambiente (Brown, 2011;

Weber et al., 2009). Os grupos de 300, 400 e 500 mg L⁻¹ de OEZ cumpriram o tempo de indução e recuperação ideal.

Geralmente, os anestésicos provocam a supressão de diversas respostas de estresse, o que facilita ao peixe a preservação de sua homeostase mesmo quando é intensamente manejado (Martínez-Porchas et al., 2009). Em geral, o aumento da concentração anestésica em até certos níveis diminui o tempo de indução em peixe. Tem sido demonstrado que concentrações elevadas de anestésicos induzem menos estresse em peixes (Hoseini et al., 2019). Todos os grupos conseguiram se manter na média dos 5 minutos de recuperação, conforme recomendado por Gomes et al., (2001).

O estresse se inicia quando há perda da homeostase, ou seja, da manutenção da constância das condições corpóreas pelo organismo, por um estímulo aversivo denominado “estressor” (Chrousos & Gold, 1992). Desta forma o indivíduo desencadeia respostas adaptativas frente ao agente estressor. Essas respostas auxiliam o organismo a retornar a seu estado inicial de homeostase. No entanto, quando essa condição se torna duradoura ou/e repetitiva seus efeitos se multiplicam em cascata, podendo gerar consequências deletérias para o organismo quando a homeostase não é reestabelecida (Shields et al., 2016).

As concentrações mais altas de anestésico impulsionam o estresse oxidativo em comparação com concentrações mais baixas, como pode ser observado no presente estudo. Os peixes que receberam maior dose do OEZ demonstraram maior estresse. O anestésico adequado não deve ter efeitos negativos na saúde dos peixes. A anestesia modifica o estado de oxigênio dos peixes prejudicando as suas respostas antioxidantes (Gressler et al., 2014). Todos os exemplares atingiram o quarto estágio da anestesia. Com o uso do *Z. officinale* a concentração mais eficaz foi de 500 mg L⁻¹ para a variável indução, levando 3 min 13s para alcançar o estágio 4.

Existe uma relação inversamente proporcional entre o tempo de indução do anestésico e a concentração do mesmo, ou seja, maiores concentrações resultam em menor tempo de indução (Park et al., 2008), como observado no presente trabalho. Além disso, existem fatores externos que podem influenciar os efeitos da anestesia tais como: tamanho do peixe, (animais maiores necessitam de doses mais elevadas de anestésico) e a temperatura alta que atua como redutor do tempo de indução (Woody et al., 2002).

O estudo realizado com alevinos de carpa comum demonstrou que concentrações entre 400- 800µL L⁻¹ de cineol composto encontrado no eucalipto alcançou a 4ª fase de anestesia dentro de 300-130s. Além disso, o aumento da concentração de cineol levou a um aumento significativo do tempo de recuperação (Mazandarani & Hoseini, 2017). Portanto, concentrações

mais baixas de anestésicos aumentam os tempos de indução e geram respostas mais elevadas ao estresse (Hoseini et al., 2020).

No campo dos anestésicos a maior parte das investigações se concentram em relação dose-resposta, junto com a caracterização comportamental das fases de indução e recuperação, e os possíveis efeitos secundários (Aydin & Barbas, 2020). A forma com o anestésico é disponibilizado para os animais também interfere no desempenho e no tempo de indução. Para as tilápias do Nilo expostas à nanoemulsão OE de cravo a indução foi mais curta do que o dos peixes expostos à solução etanólica de OE de cravo. Ambas as preparações continham a mesma concentração de eugenol (40 mg L^{-1}) (Kheawfu et al., 2017).

Estudos comprovaram que o óleo de cravo utilizado na anestesia de peixes alterou a fisiologia, hematologia e bioquímica dos peixes. O uso excessivo de anestesia é estressante, causando taxas metabólicas anormais, consumo de oxigênio, pressão arterial, e respostas fisiológicas irregulares no sangue. Concentrações de óleo de cravo acima de $0,05 \text{ mL}$ por 500 mL de água aumentam consideravelmente as taxas de mortalidade (Fernandes et al., 2016). Entretanto, concentrações anestésicas ideais podem minimizar o impacto negativo e reduzir o estresse em peixes (Pattanasiri et al., 2017). Assim, como o óleo de cravo alterou a fisiologia dos peixes o OEZ também pode ter modificado o organismo dos peixes.

O anestésico OEZ foi utilizado em doses relativamente elevadas, porém uma característica positiva do óleo essencial de gengibre se deve ao fato do mesmo não produzir efeitos fisiológicos duradouros, estar prontamente disponível, ser rentável e não tóxico para os animais e seres humanos (Coyle et al., 2004). O tempo de recuperação superior a 10 min pressupõe que o anestésico foi utilizado demasiadamente ou que o tempo de exposição foi excessivamente longo (Coyle et al., 2004). A compreensão da relação entre dose, tempo de exposição e fase anestésica assegura o controle do procedimento. De acordo com a figura 1 todos os tratamentos na recuperação demonstraram resultados promissores, pois os tempos de recuperação foram curtos e eficientes.

Os parâmetros bioquímicos e hematológicos do sangue são excelentes indicadores para analisar o estresse e a saúde dos peixes, pois, como é sabido os anestésicos podem interferir nos parâmetros bioquímicos do sangue tais como o número de células sanguíneas, níveis de glicose e cortisol plasmático (Taheri Mirghaed et al., 2018). Os peixes anestesiados com o OEZ não apresentaram alterações nas variáveis hematológicas avaliadas e na glicose. O OEZ é capaz de induzir anestesia em pacu sem afetar os parâmetros hematológicos.

O hematócrito corresponde, em porcentagem, ao volume de hemácias em relação ao volume total de sangue (Trhall, 2007). O hematócrito dos peixes submetidos ao OE Z.

Officinale foi entre 25-28%. Resultados similares foram observados nos juvenis de jundiá (*Rhamdia quelen*) o hematócrito (Hct), mostrou valores semelhantes aos encontrados por Carneiro et al. (2009), Hct 27-30 % e Becker et al. (2012), Hct 26-33 % dentro da mesma espécie. No artigo de Ventura et al. (2019), com do o óleo essencial de *Lippia sidoides* como anestésico para pacu o valor de hematócrito foi em torno de 27%- 30%. As concentrações que os peixes foram expostos ao OEZ não foram suficientes para promover alteração nas variáveis sanguíneas, exceto nos neutrófilos.

Os peixes (*Pseudoplatystoma reticulatum*) anestesiados com o óleo essencial *O. gratissimum* não apresentaram alterações nas variáveis hematológicas avaliadas e na glicose do sangue. Contudo, para os animais que foram anestesiados com o óleo essencial *Z. officinale* foram observadas alterações hematológicas na hemoglobina, hematócrito e CHCM. No caso do hematócrito, observou-se uma tendência para o seu valor aumentar à medida que a concentração anestésica aumentava (Silva et al., 2020).

Alterações quantitativas e morfológicas nas células sanguíneas são associadas ao estresse, traduzidas por variações nos valores do hematócrito, número de leucócitos circulantes, conteúdo de eritrócitos e teor de hemoglobina no eritrócito (Iriadan, 2007). Os neutrófilos fazem parte da atividade microbicida, além disso são responsáveis pela explosão respiratória, convertendo oxigênio molecular em compostos e metabólicos provindo do oxigênio (Plyzycz et al., 1989), no entanto fatores estressantes podem aumentar o número de neutrófilos. O aumento do número de neutrófilos na corrente sanguínea de peixes confere maior eficiência da linha de defesa (Sado et al., 2014).

A cromatografia a gás, utilizada no experimento, é muito atrativa devido à possibilidade de detecção de substâncias químicas em materiais biológicos. A análise é realizada em escala de nano a picogramas, ou seja, tem grande sensibilidade, podendo separar misturas complexas com até 200 compostos muito semelhantes (Skoog et al., 2002). Os compostos do OEZ podem ter sido absorvidos com mais facilidade na corrente sanguínea, devido à grande capacidade de infiltração que o álcool possui. A passagem do álcool para a corrente sanguínea após a ingestão é iniciada em média 5 minutos depois, atingindo um pico de concentração em 30 a 90 minutos (Passagli, 2009).

Alguns dos compostos identificados no *Z. officinale* também foram encontrados no OE *L. alba* EO tais como: carvone, limonene, α -copaene, caryophyllene, myrcene, porém em porcentagens diferentes (Vale et al., 2002). A análise fitoquímica do OEZ revelou que zingiberene, β -sesquiphellandrene e β -bisabolene foram os principais compostos bioativos detectados no plasma dos peixes após a imersão no anestésico em todas as concentrações

testadas de EO. As concentrações aumentaram proporcionalmente ao percentual da composição percentual do OEZ.

5. CONCLUSÃO

O uso do óleo essencial de *Zingiber officinale* foi capaz de induzir anestesia nos juvenis de pacu, considerando o menor tempo de indução e o fato de a hematologia dos peixes não ter sido afetada. As dosagens de 400 e 500 mg L⁻¹ de OEZ demonstraram bons resultados na recuperação e na indução anestésica e também promoveram menor variação no perfil hematológico, no entanto a dosagem de 400 mg L⁻¹ é a mais apropriada, tendo em vista a menor inclusão de OEZ em relação a concentração de 500 mg L⁻¹ e por deixar menos resquícios dos componentes do óleo essencial nos tecidos estudados.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, R.P. Identification of essential oil componentes by gas chromatography/quadrupole mass spectroscopy. 4. ed. Carol Stream, Illinois: **Allured Publishing Corporation**. p. 803, 2007.

ALVES, R. Anestésicos locais. (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) Dissertação – Universidade Fernando Pessoa, Porto, 51f. 2013.

AYDIN, B.; BARBAS, L.A.L. Sedative and anesthetic properties of essential oils and their active compounds in fish: A review. **Aquaculture**, 520: 734999, 2020.

BALZARINI, V. et al. Mirror, mirror on the wall: the predictive value of mirror tests for measuring aggression in fish. **Behavioral Ecology and Sociobiology**, 2014.

BANDEIRA, J. G. et al. Potential uses of *Ocimum gratissimum* and *Hesperozygis ringens* essential oils in aquaculture. **Industrial Crops and Products**, 97, 484–491, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.12.040>. Acesso em: 2 de março de 2022.

BARTON, B.A. Stress in fishes: a diversity of responses with particular reference to changes in circulating corticosteroids. **Integrative and Comparative Biology** 42, 517–525, 2002.

BECKER, A.G. et al. Transportation of silver catfish, *Rhamdia quelen*, in water with eugenol and the essential oil of *Lippia alba*. **Fish Physiology Biochemistry** 38:789–796, 2012.

BOSWORTH, B.G. et al. Effects of rested-harvest using the anesthetic AQUI-S™ on channel catfish, *Ictalurus punctatus*, physiology and fillet quality. **Aquaculture**, v.262, p.302-318, 2007.

BROWN, L. A. Anaesthesia for fish. **Vietnamese Fish**, 8: 68–70 (2011).

BURKA, J. F., K. L. et al. Drugs in salmonid aquaculture: a review. **Journal of Veterinary Pharmacology Therapeutics**, 20: 333–349, 1997. Disponível em: <[doi:10.1046/j.1365-2885.1997.00094.x](https://doi.org/10.1046/j.1365-2885.1997.00094.x)>. Acesso em: 2 de outubro de 2021.

CARNEIRO, P.C.F. et al. Transport of jundiá *Rhamdia quelen* juveniles at different loading densities: water quality and blood parameters. **Neotropical Ichthyology** 7:283–288, 2009.

CHROUSOS, G.; GOLD, P. The Concepts of Stress and Stress System Disorders. **JAMA**, 267(9), 1244-1252, 1992.

COYLE, S. D. et al. Anesthetics in Aquaculture. **Southern Regional Aquaculture Center Publication**, n.3900, pp. 6, 2004.

CUNHA, M. A. Anesthesia of silver catfish with eugenol: time of induction, cortisol response and sensory analysis of fillet. **Ciência Rural**, v.40, n.10, p.2107-2114, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0103-84782010005000154>. Acesso em: 15 de outubro de 2021.

CUNHA, M.A. Anestesia em jundiás (*Rhamdia quelen*) expostos a substâncias isoladas de plantas. Santa Maria. 2007. 65f. (Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Santa Maria). Disponível em: http://w3.ufsm.br/ppgz/conteudo/Defesas/Dissertacoes/Mauro_Alves_da_Cunha.pdf . Acesso em: 15 de maio de 2021.

DRUMMOND, R. A.; RUSSOM, C. L. Behavioral toxicity syndromes: a promising tool for assessing toxicity mechanisms in juvenile fathead minnows. **Environmental Toxicology and Chemistry**, 9:37–46, 1990.

FALSARELLA, L.N. et al. Fish adjust aggressive behavior to audience size with limited information on bystanders' fighting ability. **Behavioural Processes**. 142, 116–118, 2017.

FERNANDES, I.M. et al. The efficacy of clove oil as an anaesthetic and in euthanasia procedure for small-sized tropical fishes. **Brazilian Journal of Biology**, 77(3), 444–450, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1519-6984.15015>. Acesso em: 21 de agosto de 2021.

GHOLIPOURKANANI, H. et al. Anesthetic effect of clove oil loaded on lecithin based nano emulsions in gold fish, *Carassius auratus*. **Journal of Fisheries and Aquatic Science**. 10, 553–561, 2015. Disponível em: <[doi: 10.3923/jfas.2015.553.561](https://doi.org/10.3923/jfas.2015.553.561)>. Acesso em: 11 de agosto de 2021.

GOMES, L.C.; CHIPPAR-GOMES, A.R.; LOPES, N.P.; ROUBACH, R.; ARAUJO-LIMA, C.A.R.M. Efficacy of benzocaine as an anesthetic in juvenile tambaqui *Colossoma macropomum*. **Journal of the World Aquaculture Society**, Baton Rouge, 32(4): 426-431, 2001.

GOLDENFARB, P. B. et al. Reproducibility in the hematology laboratory: the microhematocrit determinations. **American Journal of Clinical Pathology**, v. 56, n.1, p. 35-39, 1971.

GRESSLER, L.T. et al. Silver catfish *Rhamdia quelen* immersion anaesthesia with essential oil of *Aloysia triphylla* (L'Hérit) Britton or tricaine methanesulfonate: effect on stress response and antioxidant status. **Aquaculture Research**. 45 (6), 1061–1072, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/are.12043>. Acesso em: 16 de dezembro de 2021.

HOLLOWAY, A.C. et al. Effects of clove oil and MS-222 on blood hormone profiles in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. Walbaum. **Aquaculture Research**. 35, 1025–1030, 2004.

HOSEINI, S.M. et al. Application of herbal anaesthetics in aquaculture. **Reviews in Aquaculture**. 11 (3), 550–564, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/raq.12245>. Acesso em: 16 de dezembro de 2021.

HOSEINI, S.M. et al. Antioxidant and immune responses of common carp (*Cyprinus carpio*) anesthetized by cineole: Effects of anesthetic concentration. **Aquaculture**. v. 520, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734680>. Acesso em: 25 de janeiro de 2022.

INOUE, L. et al. Avaliação de respostas metabólicas do tambaqui exposto ao eugenol em banhos anestésicos. **Acta Amazônica**, v.41, 2010.

INOUE, L.A.K.A. et al. Clove oil anaesthetic for juveniles of matrinxã *Brycon cephalus* (Gunther, 1869). **Ciência Rural**, Santa Maria, 33(5): 943-947, 2003.

IRIADAN, M. Variation in certain hematological and biochemical parameters during the peri-partum period in kilis does. **Small Ruminant Research**, v.73, p. 54 – 57, 2007.

JEENA, K. et al. Antioxidant, anti-inflammatory and antinociceptive activities of essential oil from ginger. **Indian Journal Physiol Pharmacol**, 57(1): 51–62, 2013.

KAMBLE, L.V. et al. Experimental investigation of horizontal tube immersed in gas–solid fluidized bed of large particles using artificial neural network. **International Journal of Heat and Mass Transfer**, v. 70, p. 719-724, 2014.

KHEAWFU, K. et al. Nanoemulsion: A suitable nanodelivery system of clove oil for anesthetizing *Nile tilapia*. **Drug Discoveries & Therapeutics**. 11, 181–185, 2017. Disponível em: <[doi:10.5582/ddt.2017.01029](https://doi.org/10.5582/ddt.2017.01029)>. Acesso em: 25 de janeiro de 2022.

KIKUSUI, T. et al. Social buffering: relief from stress and anxiety. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 361 (1476), 2006.

MARTÍNEZ-PORCHAS, M. et al. Cortisol and Glucose: Reliable indicators of fish stress? **Pan-American Journal of Aquatic Sciences**, v. 4, n. 2, p. 158-178, 2009

MARICCHIOLO, G.; GENOVESE, L. Some contributions to knowledge of stress response in innovative species with particular focus on the use of the anaesthetics. **The Open Marine Biology Journal**, 5: 24–33, 2011.

MAZANDARANI, M.; HOSEINI, S.M. Menthol and 1, 8-cineole as new anaesthetics in common carp, *Cyprinus carpio* (Linnaeus, 1758). **Aquaculture Research**. 48, 3041–3051, 2017.

MCEWEN, B. S.; WINGFIELD, J. C. The concept of allostasis in biology and biomedicine. **Hormones and Behavior**, 43, 2-15, 2003.

MYLONAS, C.C. et al. Comparative efficacy of clove oil and 2-phenoxyethanol as anesthetics in the aquaculture of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and gilthead sea bream (*Sparus aurata*) at different temperatures. **Aquaculture**, 246: 467– 481, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2005.02.046>. Acesso em: 5 de janeiro de 2022.

NIST **Standard Reference Data**, 2013. Disponível em: <<https://webbook.nist.gov/chemistry/name-ser/>>. Acessado em: 10 de Novembro de 2021.

PALIĆ, D. et al. Anesthetic efficacy of tricaine methanesulfonate, metomidate and eugenol: Effects on plasma cortisol concentration and neutrophil function in fathead minnows *Pimephales promelas* Rafinesque, 1820). **Aquaculture**, v. 254, n. 1-4, p. 675-685, 2006.

PARK, M.O. et al. Anaesthetic efficacy and physiological responses to clove oil anaesthetized kelp grouper *Epinephelus bruneus*, **Aquaculture Research**, Oxford, 39(8): 877-884, 2008.

PASSAGLI M. Toxicologia Forense: teoria e prática. 2ª Ed. Campinas: Millennium, 2009.

PATTANASIRI, T. et al. Acute toxicity and anaesthetic effect of clove oil and eugenol on Siamese fighting fish, *Betta splendens*. **Aquaculture**. Int., 25: 163–175, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10499-016-0020-2>. Acesso em: 5 de fevereiro de 2022.

PLYZYCZ, B.; FLORY, C.M... Leucocytes of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) pronephros: Cells types producing superoxide anion. **Developmental and Comparative Immunology**. 3: 217-224, 1989.

RANZANI-PAIVA, M. J. T. et al. Métodos para análises hematológicas em peixes. 1 ed. Maringá: Eduem, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.7476/9788576286530>. Acesso em: 24 de fevereiro de 2022.

REZENDE, F. P. et al. Sedation of nile tilapia with essential oils: tea tree, clove, eucalyptus, and mint oils. **Revista Caatinga**, v. 30, n. 2, p. 479-486, 2017.

RIBEIRO, D. et al. Anestésicos locais: Interação com membranas biológicas e com o canal de sódio voltagem-dependente. **Química Nova**, Vol. 31, No. 7, 1775-1783, 2008.

ROSS, L.G. et al. Anaesthetic and sedative techniques for aquatic animal. 3rd ed. **Oxford: Blackwell Science**, 230-237p, 2008.

ROSSI, V.S. Ambiente social: influência de coespecíficos na modulação do estresse e comportamento agressivo em peixes. Botucatu. 63p, 2019. (Tese de Doutorado Universidade Estadual Paulista – UNESP). Disponível em: https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/183685/rossi_vs_dr_bot.pdf?sequence=3&isAllowed=y. Acesso em: 01 de Dezembro de 2021.

SADO, R.Y. et al. Hematology of juvenile pacu, *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887) fed graded levels of mannan 70 oligosaccharides (MOS). **Latin American Journal of Aquatic Research**, v. 42, p. 30–39, 2014.

SKOOG, D.A. et al. Princípios de análise instrumental. 5^a. Ed. Porto Alegre: Bookman, 836p, 2002.

SHIELDS, G. et al. The effects of acute stress on core executive functions: A meta-analysis and comparison with cortisol. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, 68, 651-668, 2016.

SILVA, L.A et al. Essential oils of *Ocimum gratissimum* and *Zingiber officinale* as anesthetics for the South American catfish *Pseudoplatystoma reticulatum*. **Aquaculture**, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735595>. Acesso em: 13 de julho de 2021.

SIMÕES, L.N.; GOMES, L.C. Eficácia do mentol como anestésico para juvenis de tilápiado-nilo (*Oreochromis niloticus*). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, 61(3): 613-620, 2009.

SMALL, B.C. Anesthetic efficacy of metomidate and comparison of plasma cortisol responses to tricaine methanesulfonate, quinaldine and clove oil anesthetized channel catfish *Ictalurus punctatus*. **Aquaculture**, v. 218, p. 177–185, 2003.

STAMPS, J.; GROOTHUIS, T.G.G. The development of animal personality: relevance, concepts and perspectives. **Biological Reviews**, 85, 301-325, 2010.

TAHERI MIRGHAED, A. et al. Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) anesthesia with myrcene: Efficacy and physiological responses in comparison with eugenol. **Fish Physiology Biochemistry**. 44, 919–926, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10695-018-0481-5>. Acesso em: 27 de setembro de 2021.

TAVARES-DIAS, M.; MORAES, F. R. Hematologia de peixes teleósteos. 1 ed. Ribeirão Preto: M. 131 p. 2004.

THRALL, M.A. Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária. 1 Ed. São Paulo: Roca, 582 p. 2007.

VALE, T G. et al. Central effects of *citral*, *myrcene* and *limonene*, constituents of essential oil chemotypes from *Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown. **Phytomedicine**, v. 9, p. 709-714, 2002.

VENTURA, A.S. et al. Physiological and pharmacokinetic responses in neotropical *Piaractus mesopotamicus* to the essential oil from *Lippia sidoides* (Verbenaceae) as an anesthetic. **International Aquatic Research**, 11, 1–12, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s40071-019-0215-z>. Acesso em: 9 de maio de 2021.

VIRGIN, C.; SAPOLSKY, R. Styles of male social behavior and their endocrine correlates among low-ranking baboons. **American Journal of Primatology**, 42, 25 – 39, 1997.

WEBER, R. A., PELETEIRO, J. B., GARCIA MARTIN, L. O., ALDEGUNDE, M. The efficacy of 2-phenoxyethanol, metomidate, clove oil and MS-222 as anaesthetic agents in the Senegalese sole (*Solea senegalensis* Kaup 1858). **Aquaculture**, 288: 147– 150, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.11.024>. Acesso em: 2 de agosto de 2021.

WINTROBE, M. M. Variations on the size and haemoglobin content of erythrocytes in the blood various vertebrates. *Folia Haematologica* 51, 32-49, 1934.

WOODY, C.A.; NELSON, J.; RAMSTAD, K. Clove oil as an anesthetic for adult sockeye salmon: field trials. **Journal of Fish Biology**, London, 60: 340-347, 2002.

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

ZAHL, I.H.; SAMUELSEN, O.; KIESSLING, A. Anaesthesia of farmed fish: Implications for welfare. **Fish Physiology. Biochemistry**, 38, 201–218, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10695-011-9565-1>. Acesso em: 6 de novembro de 2021.

Este artigo foi elaborado de acordo com as normas da Revista: **Aquaculture**

CAPÍTULO 3 - ÓLEO ESSENCIAL DE GENGIBRE COMO ATENUADOR DE ESTRESSE NO TRANSPORTE DE JUVENIS DE PACU

Ginger essential oil as a stress reliever in the transportation of pacu juveniles

Anuzhia Paiva Moreira^{1*}, Cristiane Meldau de Campos¹

¹*Pós-graduação em Zootecnia, Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, Campus Aquidauana, Brasil. (anuzhia@hotmail.com)*

**Autor para correspondência: anuzhia@hotmail.com - Contato: (67) 99884-3969.*

Resumo

O objetivo deste trabalho foi avaliar a saúde e o bem-estar dos juvenis de pacu (*Piaractus mesopotamicus*) submetidos ao óleo essencial de gengibre *Zingiber officinale* (OEZ) durante o transporte. Pacus com peso médio de $31,39 \pm 9,6$ g foram divididos em 21 peixes por tratamento com três repetições com 7 exemplares em cada embalagem plástica com 4 litros de água e 6 L de oxigênio puro e divididos em quatro tratamentos: controle que não recebeu a adição do OEZ; 10 mg L^{-1} ; 20 mg L^{-1} e 30 mg L^{-1} da solução anestésica do OEZ. Após o transporte de 2h, o sangue foi colhido por meio da venopunção caudal para análises hematológicas. Amostras do plasma, filé e fígado foram colhidas ($n=20$) para quantificação dos compostos do OEZ, por cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massa. Na glicose houve um aumento significativo, no grupo que recebeu 30 mg L^{-1} e 10 mg L^{-1} . A hemoglobina, HCM e CHCM apresentaram efeito quadrático, seus valores subiram nas concentrações de 10 mg L^{-1} de 20 mg L^{-1} . A concentração dos compostos de OEZ no plasma dos juvenis de pacu apresentou um efeito quadrático nas três variáveis, o grupo que recebeu a inclusão de 10 mg L^{-1} apresentou os menores valores dos componentes do gengibre. No perfil hematológico os dados apresentaram valores elevados para a espécie pacu (*P. mesopotamicus*), principalmente para a glicose. A aplicação do OEZ contribuiu positivamente para a manutenção da qualidade da água durante o transporte. Por fim, a concentração 20 mg L^{-1} de *Zingiber officinale* é a mais indicada para o transporte de pacu.

Palavras-chave: Anestésico, Bem-estar, Transporte de peixes, *Zingiber officinale*.

* Endereço Postal: Rodovia Graziela Maciel Barroso, Km 12 Zona Rural, Aquidauana - MS, 79200-000.

Abstract

The objective of this work was to evaluate the health and welfare of pacu (*Piaractus mesopotamicus*) juveniles submitted to ginger essential oil *Zingiber officinale* (EOZ) during transport. Pacus with a mean weight of 31.39 ± 9.6 g were divided into 21 fish per treatment with three repetitions with 7 specimens in each plastic container with 4 L of water and 6 L of pure oxygen and divided into four treatments: control that did not receive the addition of EOZ; 10 mg L⁻¹; 20 mg L⁻¹ and 30 mg L⁻¹ of the EOZ anesthetic solution. After the 2h transport, blood was collected via caudal venipuncture for hematological analyses. Plasma, fillet and liver samples were collected (n=20) for quantification of EOZ compounds by gas chromatography coupled to a mass spectrometer. In glucose there was a significant increase, in the group receiving 30mg L⁻¹ and 10mg L⁻¹. Hemoglobin, HCM AND CHCM showed a quadratic effect, their values increased in the concentrations of 10 mg L⁻¹ of 20 mg L⁻¹. The concentration of EOZ compounds in the plasma of pacu juveniles showed a quadratic effect in the three variables, the group that received the inclusion of 10 mg L⁻¹ showed the lowest values of ginger components. In the hematological profile the data presented high values for pacu species (*P. mesopotamicus*), mainly for glucose. The application of EOZ contributed positively to the maintenance of water quality during transport. Finally, the concentration 20 mg L⁻¹ of *Zingiber officinale* is the most indicated for pacu transportation.

Keywords: Anesthetic, Fish transport, Welfare, *Zingiber officinale*.

1. INTRODUÇÃO

A maioria das atividades na piscicultura como práticas de manejo, tratamentos e altas densidades dificultam o bem-estar dos peixes, assim mais estudos devem ser realizados para mitigar esses problemas durante o transporte (Lima et al., 2006). Segundo Inoue et al., (2010), as práticas de manejo são bastante prejudiciais para os peixes, pois prejudicam o equilíbrio dos animais com o ambiente, iniciando as respostas do estresse, que são o conjunto das reações metabólicas em resposta a um ou mais estímulos adversos do ambiente ou imposto pelo manejo (Carneiro & Urbinati, 2001).

O transporte de peixe vivo, considerado a principal ferramenta de estresse em peixes (Sampaio & Freire, 2016), é uma prática de manejo que força o peixe a ser colocado em um ambiente diferente da sua origem, este processo é acompanhado por mudanças súbitas nas condições ambientais. Além da qualidade da água, o sucesso do transporte depende de outros

fatores, incluindo tempo, temperatura, densidade, tamanho, oxigênio e duração do transporte (Belema et al., 2017). Um transporte ineficiente cria uma elevada taxa de mortalidade.

A fim de aperfeiçoar as práticas comerciais, é necessário compreender a forma como a qualidade da água pode mudar em toda a cadeia de transporte. Os peixes que sofrem de estresse podem tornar-se mais susceptíveis aos patógenos presentes na água (Yanong, 2010). Além disso, existem outros fatores que influenciam na qualidade da água como a respiração e excreção de produtos nitrogenados pelos peixes durante o transporte (Shrivastava et al., 2017).

O estresse é todo agente ou demanda que evoca reação de estresse, ou seja, é um conjunto de reações que o organismo desenvolve ao ser submetido a uma situação que exige esforço para adaptação, isso acaba causando vários aspectos negativos no animal como baixo crescimento e suscetibilidades á agentes patogênicos (Segantin & Maia, 2007).

O estresse mecânico juntamente com uma baixa qualidade de água pode afetar negativamente o transporte de peixe. A utilização de anestésicos à base de plantas em concentrações sedativas durante o transporte de peixe é uma ferramenta importante para reduzir a sensibilidade a estímulos visuais e mecânicos, atividade natatória, a necessidade de oxigênio (Souza et al., 2019), permitindo que os peixes sejam transferidos em densidades mais elevadas de forma mais eficiente.

Em geral, os OEs em concentrações sedativas reduzem as taxas metabólicas, a magnitude da resposta ao estresse e evitam danos físicos nos peixes (Hohlenwerger et al., 2017). Recentemente, os anestésicos demonstraram benefícios quando incluídos antes ou durante o transporte, já que o transporte é um forte desencadeador de estresse em peixes (Manuel et al., 2014). A grande variedade de plantas medicinais e o número elevado de componentes em sua composição evidenciam, na maioria das vezes, sinergia entre as moléculas, o que favorece a eficácia do óleo contra patógenos (Yap et al., 2014). Além de apresentarem efeito analgésico e bactericida quando presente na água pode ajudar a combater patógenos pertinentes presentes na água do transporte.

Entre os OEs derivados de plantas em estudos na aquicultura com intuito de minimizar o estresse em peixe e melhorar a saúde, o gengibre tem se destacado. O *Zingiber officinale*, é uma planta que possui sua raiz denominada gengibre, amplamente utilizada como especiaria ou na medicina popular, é originária do Sul da China (Baliga et al., 2013). O gengibre foi utilizado no presente trabalho, pois possui inúmeros benefícios para a saúde animal, e também pela escassez de estudos do *Zingiber officinale* como um anestésico. O pacu foi utilizado neste projeto, pois é facilmente disponível na região de Aquidauana e também por possuir boas características zootécnicas como rusticidade e adaptabilidade. O objetivo deste trabalho foi

avaliar o uso do óleo essencial *Zingiber officinale* durante o transporte dos juvenis de pacu (*Piaractus mesopotamicus*) como uma alternativa para diminuir os efeitos promotores do estresse.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA), sob o protocolo nº 013/2021. O experimento foi conduzido no setor de Piscicultura da UEMS, Aquidauana, MS, Brasil.

Os juvenis de pacus com peso médio de $31,28 \pm 9,61$ g e 12 centímetros foram divididos em 21 peixes por tratamento com três repetições com 7 exemplares em cada embalagem plásticas com 4 litros de água e 6 L de oxigênio puro e divididos em quatro tratamento sete peixes por saco plástico com três repetições por tratamento. Antes do início do experimento foi realizado um jejum de 48 horas. Os peixes foram transportados em sacos plásticos com capacidade total de 10kg por unidade. Para realização do experimento foram utilizados 4 litros água e o restante foi completado com oxigênio puro. Os peixes foram divididos em quatro tratamentos com as respectivas concentrações: (OE0) controle que não recebeu a adição do óleo essencial de *Zingiber officinale* (gengibre); (OE10) adição de 10 mg L^{-1} de OE de gengibre; (OE20) inclusão de 20 mg L^{-1} de OE de gengibre e (OE30) inclusão de 30 mg L^{-1} de OE de gengibre durante o transporte. O experimento iniciou às 09:00 com o retorno às 11:00 horas com duração de duas horas de transporte.

2.1 Parâmetros físico-químicos da água

No início e no final do transporte foram verificadas as seguintes variáveis da água: concentração de oxigênio dissolvido (mg L^{-1}) e temperatura ($^{\circ}\text{C}$), utilizando oxímetro digital (Hanna® modelo HI9146); pH com auxílio de peagâmetro digital (Hanna® modelo HI98127) e níveis de amônia total e nitrito foram determinados com o uso do kit Labcon (Boyd & Tucker, 1992).

2.2 Análises hematológicas

Após o transporte os peixes foram submetidos à biometria e a colheita de sangue na seguinte sequência: OE0 repetição 1; OE10 repetição 1; OE20 repetição 1; OE30 repetição 1 e

assim sucessivamente. Para as análises sanguíneas cinco peixes foram amostrados por repetição totalizando 15 animais por tratamento, o sangue foi colhido por meio da venopunção caudal com seringas e agulhas descartáveis e em seguida transferido para os tubos eppendorf banhados com os anticoagulantes EDTA a 3%. Para análise do hematócrito o sangue foi colocado em uma capilar e depois em uma centrífuga microhematócrito seguindo a metodologia de Goldenfarb et al. (1971).

Na contagem do número eritrócitos em Câmara de Neubauer ou (RBC) – Red Blood Cells foram utilizados 5 μ L de sangue de cada peixe amostrado e 1000 μ L (1mL) da solução de formol citrato foram colocadas em um tubo eppendorf, logo após isto a amostra foi homogeneizada por turbilhamento e mantida na geladeira até o momento da leitura com microscópio óptico (400 X). Para a análise de hemoglobina (Hb) foram utilizados 10 μ L de sangue de cada peixe amostrado. As amostras foram homogeneizadas por turbilhamento, centrifugadas a 2000 rpm por 5 minutos e lidas em espectrofotômetro a 540 nm. A partir dos dados de hematologia foram calculados os índices hematimétricos: volume corpuscular médio (VCM) ($Ht \times 10/Er$), concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) ($Hb \times 100/Ht$) e hemoglobina corpuscular média HCM ($Hb \times 10/Er$) (Wintrobe, 1934; Ranzani-Paiva et al., 2013).

A análise de glicose sanguínea (glicose oxidase [GPO]) foi realizada com o aparelho medidor de Glicose Accu-Chek Active. As extensões sanguíneas foram confeccionadas em duplicata de cada animal, secas ao ar e coradas com May Grünwald-Giemsa- Wright segundo TAVARES-DIAS & MORAES, 2004, para a posterior leitura da contagem diferencial de leucócitos e contagem total de trombócitos e leucócitos.

2.3 Determinação dos componentes bioativos no plasma, filé e no fígado

Foram utilizados 15 peixes por tratamento para a dosagem sérica de plasma, amostras de sangue venoso foram colhidas por meio da venopunção caudal com seringas e agulhas descartáveis banhadas em EDTA a 3% (Wintrobe, 1934; Ranzani-Paiva et al., 2013).

Em seguida, o sangue foi centrifugado (Centrífuga: Yingtai, Modelo TD4A, 9.000 rpm por 5 minutos a 4°C), posteriormente o plasma foi transferido para microtubos para armazenamento a -20°C até o momento da análise bioquímica.

Os ensaios foram feitos em um cromatógrafo a gás (CG-2010 Plus, Shimadzu, Kyoto, Japão) acoplado ao espectrômetro de massas (CG-EM2010 Ultra), usando DB-5 (30 m de comprimento x 0,25 mm diâmetro interno, espessura 0,25 μ m), nas seguintes condições: gás

hélio (99,999% de pureza e fluxo $1,0 \text{ mL min}^{-1}$); volume da injeção de $1 \text{ }\mu\text{L}$, split (1:20). A temperatura inicial do forno foi de 50°C e aquecimento de 50°C a 280°C a $3^{\circ}\text{C min}^{-1}$. As identificações dos compostos foram realizadas utilizando o índice de retenção calculado, empregando o padrão de alcanos lineares ($\text{C}_7\text{-C}_{40}$, Sigma Aldrich com pureza $\geq 98\%$) e comparando estes dados e os espectros de massas das amostras com Adams (2007), além de comparações com a base de dados de massas (Nist, 2021).

Foram utilizadas amostras de filé e fígado de seis peixes, por tratamento para as análises dos principais componentes residuais do OE, após o transporte. Essas amostras foram congeladas a -20°C e, no momento da análise foram descongeladas em ambiente com temperatura controlada (22°C). As amostras de filé e fígado de cada peixe foram adicionadas a 10 mL de hexano grau cromatográfico. Posteriormente, as amostras foram homogeneizadas e agitadas em cuba ultrassônica (L 100 - Schuster) com temporizador por 30 min . A fração hexânica foi filtrada e o resíduo extraído por 3 vezes consecutivas com a mesma amostra e as frações hexânicas unidas para posterior evaporação em capela de exaustão, que em seguida foram redissolvidas para $200 \text{ }\mu\text{L}$ de hexano para análise por CG-EM (Adams, 2007).

As quantificações dos componentes residuais do OEZ no plasma, filé e fígado dos peixes foram realizadas no Laboratório de Ecologia Comportamental (LABECO) na Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul- Dourados/MS.

2.4 Análise estatística

Os dados foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk e também ao teste de homogeneidade. Os resultados foram submetidos à análise de variância ANOVA e quando significativas as diferenças foram submetidas ao teste de Tukey a 5% de probabilidade. As análises de regressão foram realizadas para ajustar o modelo estatístico ($P < 0,05$).

3. RESULTADOS

Não houve mortalidade após 24h da realização do experimento. Não houve variação de temperatura em relação os tratamentos ($P > 0,05$). Houve diferença estatística no oxigênio, pois este apresentou efeito cúbico após o transporte, os níveis de oxigênio dissolvido foram significativamente maiores em relação a dosagem de 20mg L^{-1} e 30mg L^{-1} . As demais variáveis de qualidade de água não diferiram significativamente (Figura 1).

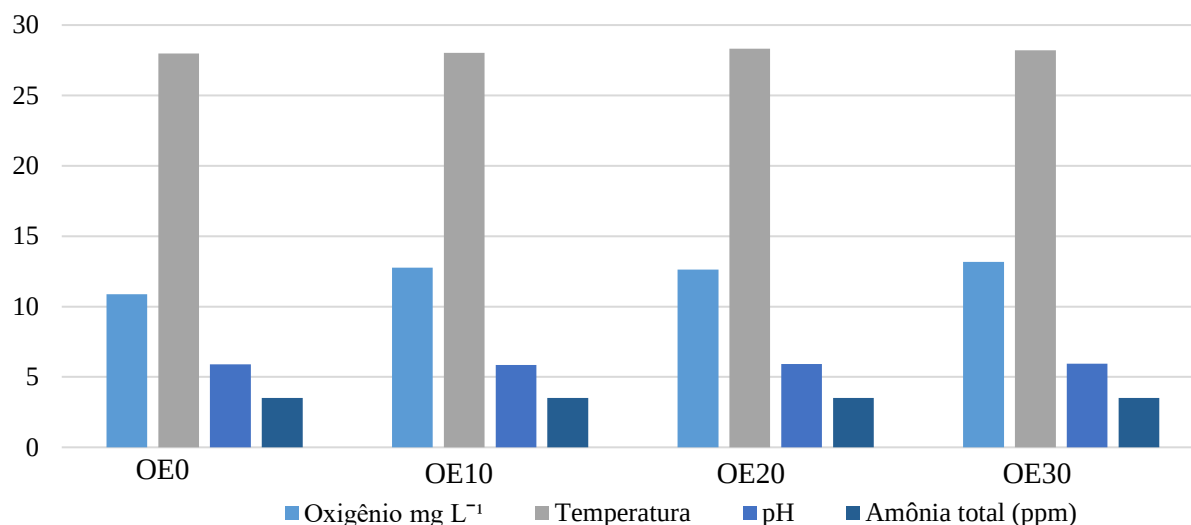


Figura 1. Efeito do *Zingiber officinale* nas variáveis de qualidade de água em juvenis de pacu antes e após o transporte. (OE0) sem adição do OEZ; (OE10) 10 mg L⁻¹ de OEZ; (OE20) inclusão de 20 mg L⁻¹ de OEZ e (OE30) inclusão de 30 mg L⁻¹ de OE de gengibre durante o transporte.

A Glicose não apresentou diferença significativa. O eritrócito apresentou efeito cúbico, no grupo controle e o tratamento de 10 mg L⁻¹ os resultados foram superiores aos demais tratamentos. A hemoglobina, HCM e CHCM apresentaram efeito quadrático, seus valores subiram nas concentrações de 10 mg L⁻¹ e 20 mg L⁻¹. Na variável hematócrito houve diferença significativa entre o grupo controle e na concentração de 10 mg L⁻¹ $p < 0.05$. Não houve diferença significativa para VCM em todos os tratamentos (Tabela 1).

Tabela 1. Efeito do anestésico *Zingiber officinale* na glicose, série vermelha e índices hematimétricos do *Piaractus mesopotamicus* durante o transporte.

Variáveis	Tratamentos				Valor- p	Modelo de regressão	R ²
	Controle	10 mg L ⁻¹	20 mg L ⁻¹	30 mg L ⁻¹			
Glicose mg dL ⁻¹	135.40 ± 54.05	143.20 ± 57.02	122.53 ± 33.68	145.73 ± 62.78	0.937	ns	–
Eritrócitos (×10 ⁶ μL ⁻¹)	2.25 ± 0.8	2.15 ± 1.12	1.29 ± 0.25	1.56 ± 0.44	<0.001	Y= -0.000001x ³ + 0.0003 -0.0083 - 0.7361	1
Hemoglobina (g dL ⁻¹)	7.81 ± 2.23	11.86 ± 4.54	12.95 ± 5.05	7.95 ± 1.90	<0.001	Y= -0.0009x ² + 0.1388x + 7.6499	0.976
Hematócrito (%)	25.92 ± 2.79	26.57 ± 4.42	22.50 ± 3.66	23.33 ± 2.09	0.007	Y= -0.0237x + 26.3733	0.600
VCM (fL)	129.66 ± 54.46	145.52 ± 55.73	176.06 ± 37.19	159.34 ± 39.68	0.098	ns	–
HCM (pg)	38.78 ± 14.64	71.04 ± 44.02	102.49 ± 43.12	54.99 ± 20.83	<0.001	Y= -0.0001x ² + 0.0188x + 3.5295	0.862
CHCM (g dL ⁻¹)	30.73 ± 6.65	45.56 ± 17.68	54.84 ± 19.36	34.01 ± 7.18	<0.001	Y= -0.0036x ² + 0.5795x + 29.4517	0.919

Os valores são expressos como média ± desvio padrão; ns indica que o modelo de regressão não foi significativo (n = 15 por grupo).

Não houve diferença entre os tratamentos para a monócito, linfócitos e neutrófilo (Tabela 2). Os efeitos dos parâmetros: leucócitos totais e trombócitos dos juvenis de pacu foram demonstrados pelas equações de regressão cúbica (médias ± desvio padrão) (Tabela 2). Além

disso, o controle obteve resultados superiores as demais unidades experimentais, principalmente nos Leucócitos totais e trombóticos.

Tabela 2. Perfil leucocitário de *Piaractus mesopotamicus* sob o uso do anestésico *Zingiber officinale*.

Variáveis	Controle	10mg L ⁻¹	20 mg L ⁻¹	30 mg L ⁻¹	Valor-	Modelo de regressão	R ²
			p				
Monócitos (%)	6.27 ± 1.56	7.10 ± 1.72	6.2 ± 1.5	6.40 ± 1.34	0.393	ns	–
Linfócitos (%)	64.27 ± 5.11	62.13 ± 5.46	63.47 ± 3.75	66.07 ± 4.43	0.179	ns	–
Neutrófilos (%)	29.37 ± 4.79	30.63 ± 4.69	30.27 ± 3.90	27.47 ± 4.33	0.246	ns	–
Leucócitos totais (x10 ³ µL ⁻¹)	164.84 ± 65.42	62.23 ± 18.63	62.23 ± 18.63	76.85 ± 20.74	<0.001	Y= 0.000002x ³ – 0.0004x ² + 0.0097x + 11.9282	1
Trombócitos (x10 ³ µL ⁻¹)	75.31 ± 25.34	69.46 ± 25.59	28.27 ± 8.03	37.21 ± 14.49	<0.001	Y= 0.000003x ³ – 0.0006x ² + 0.0204x + 11.1425	1

Os valores são expressos como média ± desvio padrão; ns indica que o modelo de regressão não foi significativo (n = 15 por grupo).

O tratamento que recebeu 10 mg L⁻¹ apresentou menor porcentagem do óleo essencial, pois ocorreu uma correlação proporcional entre as variáveis, ou seja, o aumento da dose do óleo de gengibre nos grupos de 20 mg L⁻¹ e 30 mg L⁻¹ elevou a concentração *Zingiber officinale* no experimento. Não foram encontrados compostos de OE de gengibre no controle, pois este tratamento não recebeu o anestésico (Tabela 3).

Tabela 3. Concentração dos compostos do óleo essencial de *Zingiber officinale* no plasma dos pacus.

Plasma	Tratamentos						
	Controle	10 mg L ⁻¹	20 mg L ⁻¹	30 mg L ⁻¹	Valor-p	Modelo de regressão	R ²
Zingiberene %		0.39 ± 0	0.83 ± 0.01	1.17 ± 0.02	<0.001	Y= 0.0001x ² + 0.0278x – 2.1196	1
β-Bisabolene %		0.19 ± 0.01	0.36 ± 0.02	0.51 ± 0	<0.001	Y= –0.000005x ² + 0.0041x – 0.0093	1
Sesquiphellandren %		0.24 ± 0.01	0.52 ± 0.02	0.74 ± 0.02	<0.001	Y= –0.0001x ² + 0.027x – 2.5723	1

Os valores são expressos como média ± desvio padrão (n = 6 por grupo).

A concentração dos compostos de OEZ no plasma dos juvenis de pacu apresentou um efeito quadrático nas três variáveis, o grupo que recebeu a inclusão de 10 mg L⁻¹ apresentou os menores valores dos componentes do gengibre. Na quarta tabela, de maneira geral ocorreu o mesmo efeito que pode ser observado na tabela 4, na qual o grupo que recebeu a dose de 10 mg L⁻¹ apresentou melhor desempenho e também menor concentração dos componentes do óleo essencial de gengibre no filé dos peixes.

Tabela 4. Concentração dos compostos do óleo essencial de *Zingiber officinale* no filé dos peixes.

Filé	Tratamentos						
	Controle	10 mg L ⁻¹	20 mg L ⁻¹	30 mg L ⁻¹	Valor-p	Modelo de regressão	R ²
Zingiberene %		0.68 ± 0.02	1.39 ± 0.02	2.27 ± 0.03	<0.001	Y= 0.00004x ² + 0.0087x + 0.156	1
β-Bisabolene %		0.23 ± 0	0.48 ± 0	0.74 ± 0.02	<0.001	Y= -0.0051x - 0.00273	0.999
Sesquiphellandrene %		0.36 ± 0.01	0.74 ± 0.01	1.10 ± 0.02	<0.001	Y= 0.0074x - 0.0027	0.999

Os valores são expressos como média ± desvio padrão (n = 6 por grupo).

Na análise do filé β-bisabolene e sesquiphellandrene apresentaram um efeito linear após o transporte. Contudo, no mesmo ensaio a variável zingiberene demonstrou uma regressão com efeito quadrático diferente dos outros parâmetros analisados (Tabela 4).

Acerca dos compostos do óleo gengibre no fígado dos peixes o grupo que recebeu 10 mg L⁻¹ apresentou menor porcentagem zingiberene, sesquiphellandrene e bisabolene em comparação aos outros parâmetros em todos os tratamentos amostrados. Em contrapartida o tratamento 3 apresentou um resultado em inferior nas três variáveis: zingiberene, bisabolene e sesquiphellandrene. Assim, o aumento da concentração de óleo essencial corrobora para o crescimento dos compostos do óleo de gengibre no fígado dos peixes (Tabela 5).

Tabela 5. Concentração dos compostos do óleo essencial de *Zingiber officinale* no fígado dos peixes.

Fígado	Tratamentos						
	Controle	10 mg L ⁻¹	20 mg L ⁻¹	30 mg L ⁻¹	Valor-p	Modelo de regressão	R ²
Zingiberene %		0.32 ± 0.01	0.71 ± 0.01	1.10 ± 0.02	<0.001	Y= 0.0078x - 0.0727	0.999
β-Bisabolene %		0.14 ± 0.01	0.24 ± 0	0.34 ± 0.01	<0.001	Y= 0.002x + 0.036	0.999
Sesquiphellandren %		0.17 ± 0.01	0.31 ± 0.01	0.50 ± 0.01	<0.001	Y= 0.00001x ² + 0.0012x + 0.078	1

Os valores são expressos como média ± desvio padrão (n = 6 por grupo).

Zingiberene e *bisabolene* apresentaram efeito linear, *sesquiphellandren* demonstrou efeito quadrático, seus valores subiram conforme o aumento das doses do OEZ.

4. DISCUSSÃO

No presente estudo, testamos o uso do OEZ na água do transporte para reduzir o estresse durante o manejo e seus efeitos nas respostas hematológicas e glicose plasmática de juvenis de pacu. Os anestésicos podem ser utilizados como sedativos no transporte de peixes em baixas concentrações (Salbego et al., 2014), reduzindo o metabolismo e o estresse. Mesmo assim, os OEs precisam ser analisados quanto a sua eficácia através da: avaliação comportamental, sobrevivência dos peixes, impactos nos parâmetros hematológicos, taxa de ventilação, e análise do filé (Oliveira et al., 2019).

A agitação dos peixes durante o experimento pode ter causado diferença na qualidade da água. O aumento da temperatura pode aumentar a concentração da amônia e o consumo de oxigênio. Mesmo com os valores altos da amônia os peixes não foram prejudicados durante o experimento (Boyd, 1998). Outra hipótese, para os níveis de oxigênio permanecerem altos após o transporte, deve-se ao uso de oxigênio puro nos sacos de transporte (Sampaio & Freire, 2016). Além disso, o anestésico pode ter sido responsável por tranquilizar os peixes, contribuindo para a redução do consumo do oxigênio dos animais que receberam as concentrações do OEZ. A excreção dos peixes elevou a concentração de amônia em função do metabolismo dos animais. Alguns estudos relataram que os anestésicos utilizados para o transporte em peixe reduziram a agitação e o estresse (Park et al. 2008).

O aumento do nível da concentração da glicose é uma resposta para atender a demanda metabólica e manter a homeostase, durante situações adversas, como transporte (Pankhurst, 2011). No perfil hematológico os dados apresentaram valores elevados para a espécie pacu (*Piaractus mesopotamicus*), principalmente para a glicose. Uma das formas mais utilizadas para quantificação de estresse em peixes é o nível elevado da concentração de glicose sanguínea (Wendelaar bonga, 1997). Segundo, Baldan (2004), as concentrações de glicose observadas aos 30, 60 e 90 dias de suplementação de cromo apresentaram valores entre 55 a 61 mg dL⁻¹.

Após o transporte, os peixes apresentaram níveis aumentados do número de eritrócitos, trombócitos e leucócitos e redução da hemoglobina, CHCM e HCM. A hemoglobina mostrou valores parecidos com o encontrado pelos autores Tavares – Dias & Mataqueiro (2004) para pacus oriundos de confinamento intensivo, valores de hemoglobina de 8,9 a 9,6 g/dL. Além disso, trabalho como o do Camargo et al., (2005) também apresentou hemoglobina em torno de 9,1 a 11,0 g dL⁻¹.

Os resultados do hematócrito foram baixos, pois o transporte pode ter causado uma hemodiluição por perturbações osmorregulatórias que podem resultar no influxo de água. É possível que estas alterações estejam relacionadas com a exposição à hiperoxia, devido ao excesso de oxigênio nas sacolas plásticas (Hosfeld et al., 2010).

Com relação aos índices hematológicos na variável HCM a dosagem 10 mg L^{-1} e 20 mg L^{-1} de OEZ aumentou em relação aos outros grupos. O CHCM também foi maior para dosagem 10 mg L^{-1} e 20 mg L^{-1} de OEZ. Portanto, o tratamento que recebeu a dose de 20 mg L^{-1} de OEZ apresentou valores superiores para hemoglobina, VCM, HCM e CHCM, assim esse grupo teve maior concentração de hemoglobina em suas hemácias e aumento do tamanho das células.

Os neutrófilos têm função importante na atividade, pois convertem oxigênio molecular em compostos e metabólicos provindo do oxigênio (Plyzycz et al., 1989), fatores estressantes podem aumentar o número de neutrófilos. Os linfócitos, monócitos e neutrófilos não apresentaram diferenças em seus níveis. O OEZ na água do transporte não influenciou no número de linfócitos, neutrófilos e monócitos, mas atenuou a elevação de leucócitos e trombócitos totais em relação ao grupo controle no pacu após o transporte. Houve aumento no número de leucócitos totais e trombócitos do grupo controle em relação aos demais tratamentos essas são características comumente observadas após o estresse, ou seja, justamente nos animais que não receberam o OEZ apresentaram maior inclinação aos mecanismos do estresse.

O OEZ na água de transporte modificou a resposta hematológicas. Peixes transportados com OEZ apresentaram valores mais baixos de eritrócitos, porcentagem de hematócrito, e valores mais altos para hemoglobina, HCM e CHCM em relação ao controle. Os resultados sugerem que o uso do OEZ na água pode minimizar os efeitos fisiológicos negativos causados pelo transporte.

As propriedades anti-inflamatórias do óleo volátil de gengibre e alguns dos seus constituintes mais importantes são zingiberene (Türkez et al., 2014; Zhou et al., 2006) e sesquiphellandrene (Jeena et al., 2013; Rashidian et al., 2014). O OE *Lippia alba* (OELA) em juvenis de tambacu (*Piaractus mesopotamicus* × *Colossoma macropomum*) durante o transporte alterou a síntese de metabólitos e mecanismos energéticos. No entanto, os juvenis que receberam $20 \mu\text{L L}^{-1}$ OELA tiveram um aumento no plasma em relação ao grupo de $10 \mu\text{L L}^{-1}$ OELA (Sena et al., 2016). O mesmo foi observado com OEZ na concentração dos compostos do óleo essencial de *Zingiber officinale* no plasma dos peixes, no presente estudo, visto que os tratamentos 20 mg L^{-1} e 30 mg L^{-1} apresentaram maior concentração dos zingiberene, bisabolene e sesquiphellandrene após o transporte.

Depois do transporte foi encontrado resquício de OEZ no filé dos juvenis de pacus e fígado. Ainda não há nenhum estudo sobre o efeito para o homem após consumir carne de peixe com componentes residuais de OEs. Esses resultados demonstraram que a imersão dos peixes no OEZ por duas durante o transporte foi suficiente para que esses compostos fossem

absorvidos pelo organismo dos juvenis para a sua corrente sanguínea, tecido muscular e fígado. Os resíduos anestésicos embora não sejam prejudiciais à saúde humana, podem afetar o sabor da carne do peixe (Stone & Tostin, 1999).

O fígado é responsável pelas funções vitais dos peixes, especificamente no metabolismo, transformação, acumulação e excreção de contaminantes (Carrola et al., 2009). As células hepáticas têm um papel fundamental em diversas funções essenciais para a sobrevivência da espécie, tais como, no metabolismo de proteínas, lipídios e hidratos de carbono. Além disso, estão envolvidas no processo de hematopoiese, na produção de anticorpos e na secreção biliar (Melo et al., 2004). Por esta razão, o fígado responde instantaneamente à presença de poluentes demonstrando imediatamente alterações estruturais e funcionais (Figueiredo- Fernandes et al., 2006).

O fígado é o órgão mais importante no processo de desintoxicação, por isso é um dos órgãos mais afetados pelos contaminantes da água (Camargo & Martinez, 2007). Apesar da eficácia dos anestésicos as suas propriedades e composições ainda precisam ser investigadas. Afinal, cada anestésico apresenta vantagens e desvantagens, tais como a relação entre os efeitos terapêuticos e tóxicos e as desordens na fisiologia dos peixes (Velisek et al., 2006).

Todos os peixes submetidos ao OEZ apresentaram no filé, fígado e plasma dos juvenis compostos de concentrações do gengibre em níveis proporcionais a composição percentual do OE. OEZ pode sofrer alterações em relação a sua composição, devido aos fatores ambientais no cultivo do gengibre, aos diferentes modos de preparo e a parte da planta em que será retirado o óleo essencial. O gengibre contém um fragmento de até 3% de óleo essencial cujos principais constituintes são sesquiterpenoides com zingiberene como o componente principal (Mcgee, 2004). Já no rizoma em pó contém 3-6% de óleo, 9% proteína, 60-70% carboidratos, 3-8% fibra bruta, cerca de 8% de cinzas, 9-12% de água e 2-3% de óleo volátil (Evans, 2002).

5. CONCLUSÃO

A aplicação do óleo essencial de *Zingiber officinale* contribuiu positivamente para as variáveis hematológico, pois os animais que receberam o OEZ demonstraram menor variação nos dados sanguíneos, assim o OEZ atenuou as respostas de estresse dos juvenis de pacu (*Piaractus mesopotamicus*). A concentração 20 mg L⁻¹ de *Zingiber officinale* é a mais indicada

para o transporte de pacu, pois esta é uma dose intermediária que apresentou resultados mais eficientes em relação aos demais tratamentos, além disso demonstrou menor resquício do OEZ no plasma, fígado e file dos peixes em relação ao grupo que recebeu a concentração de 30 mg L⁻¹ de OEZ.

Financiamento

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES).

6. REFERÊNCIAS

- Adams, R.P., 2007. Identification of essential oil components by gas chromatography/quadrupole mass spectroscopy. 4. ed. Carol Stream, Illinois: **Allured Publishing Corporation**. p. 803. <https://doi.org/10.1016/j.jasms.2005.07.008>.
- Baldan, A. P., 2004. Suplementação de cromo na dieta, utilização de carboidrato e desempenho produtivo do pacu (*Piaractus mesopotamicus*). Dissertação de Mestrado. Jaboticabal, SP, p.46.
- Baliga, M.S., Latheef, L., Haniaka, R., Fazal, F., Chacko, J., Arora, R., 2013. Chapter 41-ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) in the treatment and prevention of arthritis. In: Preedy, R.R.W.R (Ed), Bioactive Food as Dietary Interventions for rthritis and Related Inflammatory Diseases. **Academic Press**, San Diego, pp. 529-544.
- Becker, A.G., Parodi, T.V., Heldwein, C.G., Zeppenfeld, C.C., Heinzmann, B.M., Baldisserotto, B., 2012. Transportation of silver catfish *Rhamdia quelen*, in water with eugenol and the essential oil of *Lippia alba*. **Fish Physiology and Biochemistry**, vol. 38, no. 3, p. 789-796. <https://doi.org/10.1007/s10695-011-9562-4>.
- Belema, M., Idowu, K. O., Aghogho, K. D., Ndubuisi, A., Oluwakemi, A., Stella, U., 2017. Handling and packaging of ornamental fishes for successful transportation. **International Journal of Fisheries and Aquatic Studies**, 5(5), 263–265.
- Boyd, C.E., Tucker, C.S., 1992. Water quality and pond soil analyses for aquaculture. Auburn University, Alabama, USA, Alabama Agricultural Experiment Station, p 183.
- Boyd, C.E., 1998. Water Quality for Pond Aquaculture. Int. Cent. Exp. Stn.
- Brown, L. A., 2011. Anaesthesia for fish. **V i e t f i s h**, 8: 68–70.
- Camargo, S. O., Pouey, J. L., Martins, C., 2005. Parâmetros eritrtricitários do jundiá (*Rhamdia quelen*) submetido à dieta com diferentes níveis de proteína. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 35, n. 6, p. 1406 – 1411. <https://doi.org/10.1590/S0103-84782005000600028>.
- Camargo, M.M.P., Martinez, C.B.R., 2007. Histopathology of gills, kidney and liver of a Neotropical fish caged in na urban stream. **Neotropical Ichthyology** 5:327-336. <https://doi.org/10.1590/S1679-62252007000300013>.
- Carneiro, P., Urbinati, E. C., 2001. Salt as a stress response mitigator of matrinxã, *Brycon cephalus* (Günther), during transport. **Aquaculture Research**, 32, 297–304. <http://dx.doi.org/10.1046/j.1365-2109.2001.00558.x>.
- Carrola, J., Fontainhas- Fernandes, A., Matos, P., Rocha, E., 2009. Liver histopathology in Brown Trout (*Salmo trutta f. fario*) from the Tinhela River, Subjected to Mine Drainage

- from the Abandoned Jales Mine (Portugal). **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology** 83: 35-41. <https://doi.org/10.1007/s00128-009-9726-4>.
- Diniz, N. M.; Honorato, C. A. Algumas alternativas para diminuir os efeitos do estresse em peixes de cultivo – revisão. **Arq. Ciênc. Vet. Zool. UNIPAR**, Umuarama, v. 15, n. 2, p. 149-154, jul./dez. 2012.
- Emmanuel, B. E., Fayinka, D. O., Aladetohun, N. F., 2013. Transportation and the effects of stocking density on the survival and growth of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (Linnaeus). **World Journal of Agricultural Sciences**, 1(1), 001–007.
- Evans, W.C., 2002. Trease and Evans Pharmacognosy, 16th Edn, Saunders **Elsevier**: 289-292.
- Figueiredo-Fernandes, A., Fontaínhas- Fernandes, A., Monteiro, R., Reis-Henriques, M.A., Rocha, E., 2006. Effects of the Fungicide Mancozeb on Liver Structure of Nile Tilapia *Oreochromis niloticus*: Assessment and Quantification of Induced Cytological Changes Using Qualitative Histopathology and the Stereological Point- Sampled Intercept Method. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology** 76:249-255.
- Goldenfarb, P. B., Bowyer, F. P., Hall, E., Brosious, E., 1971. Reproducibility in the hematology laboratory: the microhematocrit determinations. **American Journal of Clinical Pathology**, v. 56, n.1, p. 35-39.
- Hohlenwerger, J.C., Baldisserotto, B., Couto, R.D., Heinzmann, B.M., Da Silva, D.T., Caron, B.O., Schmidt, D., Copatti, C.E., 2017. Essential oil of *Lippia alba* in the transport of Nile tilapia. **Ciência Rural** 47 (3), e20160040. <https://doi.org/10.1590/ 0103-8478cr20160040>.
- Hosfeld, C. D., Handeland, S. O., Fivelstad, S., Stefansson, S. O., 2010. Physiological effects of normbaric environmental hyperoxia on Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) presmolts. **Aquaculture**, 308(1-2), 28–33. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2010.08.003>.
- Inoue, L. Boijink, C. Ribeiro, P. Silva, A., 2010. Affonso, E. Avaliação de respostas metabólicas do tambaqui exposto ao eugenol em banhos anestésicos. **Acta Amazônica**, v.41.
- Jeena K., Liju V.B., Kuttan R., 2013. Antioxidant, anti-inflammatory and antinociceptive activities of essential oil from ginger. **Indian Journal of Physiology and Pharmacology**. 57: 51-62.
- Kamalam, B. S., Patiyal, R. S., Rajesh, M., Mir, J. I., Singh, A. K., 2017. 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, <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.08.012>.
- Lima, L., Ribeiro, L., Leite, R., Melo, D., 2006. Estresse em peixes. *Rev Bras Reprodução Animal*, Belo Horizonte, v.30, n.3/4, p.113-117.
- Manuel, R., Boerrigter, J., Roques, J., Heul, J., Bos, R., Flik, G., Vis, H., 2014. Stress in African catfish (*Clarias gariepinus*) following overland transportation. **Fish Physiology and Biochemistry**, 40(1), 33-44. <https://doi.org/ 10.1007/s10695-013-9821-7>.
- Martins, M .L., 2018. Blood biochemical parameters and melanomacrophage centers in Nile tilapia fed essential oils of clove basil and ginger. **Fish Shellfish Immunol.** 74, 444–449. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2018.01.021>.
- Mcgee, H., 2004. On Food and Cooking: The Science and Lore of the Kitchen, 2nd Edn., Scribner: 425-426.
- Melo, G.C., Fanta, E.S., 2004. Efeitos subletais da ação do organofosforado Folidol® 600 no fígado do peixe de água doce jundiá *Rhamdia quelen*: uma análise histopatológica. Universidade Federal do Panamá, setor de ciências biológicas.
- NIST **Standard Reference Data** <<https://webbook.nist.gov/chemistry/name-ser/>> .
Acessado em : 10 de Novembro de 2021.

- Oliveira, C.P.B., Lemos, C.H.P., Vidal, L.V.O., Couto, R.D., Pereira, D.S.P., Copatti, C.E., 2019. Anaesthesia with eugenol in hybrid Amazon catfish (*Pseudoplatystoma reticulatum* × *Leiarius marmoratus*) handling: Biochemical and haematological responses. **Aquaculture** 501, 255–259. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.11.046>.
- Pankhurst, N.W., 2011. The endocrinology of stress in fish: an environmental perspective. **Gen. Comp. Endocrinol.** 170, 265–275. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ygcen.2010.07.017>.
- Park, M.O., Hur, J.W., Im, S.Y., Seol, D.W.; Lee, J.; Park, I.S., 2008. Anaesthetic efficacy and physiological responses to clove oil anaesthetized kelp grouper *Epinephelus bruneus*, **Aquaculture Research**, Oxford, 39(8): 877-884. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2008.01941.x>.
- Pramod, P. K., Ramachandran, A., Sajeevan, T.P., Sthampy, S., Pai, S. S., 2010. Comparative efficacy of MS-222 and benzocaine as anaesthetics during simulated transport conditions of a tropical ornamental fish *Puntius filamentosus* (Valenciennes). **Aquaculture Research**., 41: 309–314. <https://doi.org/doi:10.1111/j.1365-2109.2009.02333.x>.
- Plyzcz, B., Flory, C.M., Galvan, I. Bayne, C.J., Leucocytes of Rainbow trout (*Oncorhynchus myliss*) pronephros: cell types producing superoxide anion. **Developmental and Comparative Immunology**, 13, 217-224.
- Ranzani-Paiva, M. J. T., Pádua, S. B., Tavares-Dias, M. I., 2013. Métodos para análises hematológicas em peixes, Maringá: Eduem.
- Rashidian, A., Mehrzadi, S., Ghannadi, A.R., Mahzooni, P., Sadr, S., Minaiyan, M., 2014. Protective effect of ginger volatileoil against acetic acid-induced colitis in rats: a light microscopic evaluation. **Journal of Integrative Medicine**. 12:115–120.
- Rezende, F. P., Pascoal, L. M., Vianna, R. A., Lanna, E. A. T., 2017. Sedation of nile tilapia with essential oils: tea tree, clove, eucalyptus, and mint oils. **Revista Caatinga**, v. 30, n. 2, p. 479-486. <https://doi.org/10.1590/1983-21252017v30n223rc>.
- Salbego, J., Beckerl, A.G., Gonçalves, J.F., Menezes, C.C., Heldwein, C.G., Spanevello, R.M.; Loro, V.L., Schetinger, M.R.C., Morsch, V.M., Heinzmann, B.M., Baldisserotto, B., 2014. The essential oil from *Lippia alba* induces biochemical stress in the silver catfish (*Rhamdia quelen*) after transportation. **Neotropical Ichthyology**, v. 12, p. 811-818. <https://doi.org/10.1590/1982-0224-20130178>.
- Sampaio, F.D.F., Freire, C.A., 2016. An overview of stress physiology of fish transport: changes in water quality as a function of transport duration. **Fish Fish**. 17, 1055–1072. <https://doi.org/10.1111/faf.12158>.
- Segantin, O. G., Maia, L. F. M., 2007. Estresse vivenciado pelos profissionais que trabalham na saúde. 2007. 49 f. Monografia (Especialização) - Instituto de Ensino Superior de Londrina, Londrina.
- Sena, A. C., Teixeira, R. R., Ferreira, E. L., Heinzmann, B. M., Baldisserotto, B., Caron, B. O., Schmidt, D., Couto, R.D., Copatti, C. E., 2016. Essential oil from *Lippia alba* has anaesthetic activity and is effective in reducing handling and transport stress in tambacu (*Piaractus mesopotamicus* × *Colossoma macropomum*). **Aquaculture**, 465, 374–379. <https://doi.org/doi:10.1016/j.aquaculture.2016.09>.
- Septiarusli, I. E., Haetami, K., Mulyani, Y., Dono, D.D., 2012. Potensi senyama metabolit sekunder dar ekstrak biji buah keben (*Barringtonia asiatica*) dalam proses anestesi ikan kerapu macan (*Ephinephelus fuscoguttatus*). **Jurnal Perikanan dan Kelautan**, v.3, n.3.
- Shrivastava, J., Sinha, A.K., Cannaerts, S., Blust, R., De Boeck, G., 2017. Temporal assessment of metabolic rate, ammonia dynamics and ion-status in common carp during fasting: a promising approach for optimizing fasting episode prior to fish transportation. **Aquaculture** 481, 218–228. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.09.008>.

- Soltanian, S., Hoseinifar, S.H., Gholamhosseini, A., 2018. Modulation of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) cutaneous mucosal immune responses following anesthesia: a comparative study on different anesthetic agents. **Fish Shellfish Immunology**. 80, 319–324. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2018.06.032>.
- Stone, D. and Tostin, N., 1999 Clove bud oil a big yawn for silver perch. *Fisherie NSW Maganize Spring, Sydney*, 19, 30-34.
- Souza, C. F., Baldissera, M. D., Silva, L. D. L.; Geihs, M. A., Baldisserotto, B., 2018. Is monoterpene terpinen-4-ol the compound responsible for the anesthetic and antioxidant activity of *Melaleuca alternifolia* essential oil (tea tree oil) in silver catfish? **Aquaculture**, v. 486, p. 217-223. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.12.025>.
- Souza, A. S.L., Peret, A.C., Hamoy, M., Souza, R.A.L., Torres, M.F., Barbas, L.A.L., 2019. Propofol and essential oil of *Nepeta cataria* induce anaesthesia and marked myorelaxation in tambaqui *Colossoma macropomum*: Implications on cardiorespiratory responses. **Aquaculture** 500, 160–169. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.10.017>.
- Taheri Mirghaed, A., Yasari, M., Mirzargar, S.S., Hoseini, S.M., 2018. Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) anesthesia with myrcene: Efficacy and physiological responses in comparison with eugenol. **Fish Physiology and Biochemistry**. 44, 919–926. <https://doi.org/10.1007/s10695-018-0481-5>.
- Tavares-Dias, M., Mataqueiro, M. I., 2004. Características hematológicas, bioquímicas e biométricas de *Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887 (*Osteichthyes: Characidae*) oriundos de cultivo intensivo. *Acta Scientiarum. Biological Sciences*, v. 26, n. 2, p. 157 – 162. <https://doi.org/10.4025/actascibiols.v26i2.1647>.
- Tavares-Dias, M.; Moraes, F. R., 2004. Hematologia de peixes teleósteos. 1aed. Ribeirão Preto: M. 131 p.
- Türkez H., Toğar B., Çelik K., 2014. *In vitro* study of human lymphocytes cytological and biochemical effects by zingiberene. **Journal of Essential Oil Research**. 26:367–371.
- Velisek, J., Wlasow, T., Gomulka, P., Svobodová, Z., Novotný, L., ziomek, E., 2006. Effects of clove oil anaesthesia on european catfish (*Silurus glanis* L.) **Acta Veterinaria Brno** 75:99–106.
- Wintrobe, M. M. 1934. Variations on the size and haemoglobin content of erythrocytes in the blood various vertebrates. *Folia Haematologica* 51, 32-49.
- Yanong, R.P.E., 2010. Use of antibiotics in ornamental fish aquaculture. In: University of Florida Institute of Food and Agricultural Sciences Extension Publication Cir. 84. pp. 1–8.
- Yap, P.S.X., Yiap, B.C., Ping, H.C., Lim, S.H.E., 2014. Essential Oils, A New <https://doi.org/10.2754/avb200675010099>.
- Wendelaar Bonga, S. E., 1997. The stress response in fish. *Physiological reviews*, v. 77, n. 3, p. 591–625, 1997. <https://doi.org/10.1152/physrev.1997.77.3.591>.
- Horizon in Combating Bacterial Antibiotic Resistance. *TOMICROJ* 8, 6–14. <https://doi.org/10.2174/187428580140801000>.
- Zhou H.-l., Deng Y.-m., Xie Q.-m., 2006. The modulatory effects of the volatile oil of ginger on the cellular immune response *in vitro* and *in vivo* in mice. **Journal of Ethnopharmacology**. 105:301–305.

CAPÍTULO 4: CONSIDERAÇÕES FINAIS

O avanço da indústria aquícola fez aumentar a procura por novas tecnologias, mecanismos promotores de bem-estar e redutores de estresse. Por causa disso, os óleos essenciais ganharam destaque nos últimos anos, devido ao baixo custo, grande disponibilidade dos seus produtos, não deixar resíduos químicos no meio ambiente e nos organismos aquáticos e também por não gerar problemas neurológicos.

Os anestésicos a base de óleos essenciais surgiram para desmistificar a produção aquícola arcaica por meio de alternativas mais rentáveis e eficientes. O *Zingiber officinale* demonstrou um grande potencial quando utilizado em juvenis de pacu (*Piaractus mesopotamicus*) no manejo e no transporte.

Por fim, a solução anestésica de *Zingiber officinale* foi eficiente na execução dos experimentos científicos desempenhados, pois atingiu a finalidade proposta. No entanto, ainda há a necessidade de mais estudos científicos na área da piscicultura com o foco no óleo essencial *Zingiber officinale*, pois as poucas pesquisas científicas a respeito desse estudo em organismos aquáticos não respondem há abundância de hipóteses sobre o gengibre.