



UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE ZOOTECNIA

**AVALIAÇÃO HEMATOLÓGICA E TERMOGRÁFICA DE JUVENIS
DE PACU EXPOSTOS AO ESTRESSE DE MANEJO SEGUIDO DE
INDUÇÃO ANESTÉSICA**

Bruna Matias de Souza Rocha

Dourados - MS

Agosto-2020



UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE ZOOTECNIA

**AVALIAÇÃO HEMATOLÓGICA E TERMOGRÁFICA DE JUVENIS
DE PACU EXPOSTOS AO ESTRESSE DE MANEJO SEGUIDO DE
INDUÇÃO ANESTÉSICA**

Acadêmica: Bruna Matias de Souza Rocha
Orientadora: Prof^ª. Dra. Andrea Maria Araújo Gabriel

Trabalho apresentado à Faculdade de
Ciências Agrárias da Universidade
Federal da Grande Dourados, como
parte das exigências para obtenção do
grau de bacharel em Zootecnia

Dourados - MS

Agosto – 2020

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP).

R672a Rocha, Bruna Matias De Souza
AVALIAÇÃO HEMATOLÓGICA E TERMOGRÁFICA DE JUVENIS DE PACU
EXPOSTOS AO ESTRESSE DE MANEJO SEGUIDO DE INDUÇÃO ANESTÉSICA [recurso
eletrônico] / Bruna Matias De Souza Rocha. -- 2020.
Arquivo em formato pdf.

Orientador: Andrea Maria Araújo Gabriel.
TCC (Graduação em Zootecnia)-Universidade Federal da Grande Dourados, 2020.
Disponível no Repositório Institucional da UFGD em:
<https://portal.ufgd.edu.br/setor/biblioteca/repositorio>

1. Anestesia. 2. hematologia. 3. manjeriço. 4. peixe. 5. termografia. I. Gabriel, Andrea Maria Araújo. II. Título.

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

©Direitos reservados. Permitido a reprodução parcial desde que citada a fonte.

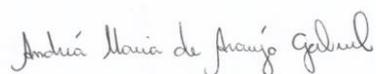
CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: Avaliação hematológica e termográfica de juvenis de pacu expostos ao estresse de manejo seguido de indução anestésica.

AUTOR: Bruna Matias de Souza Rocha

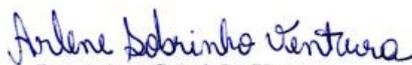
ORIENTADORA: Andrea Maria Araújo Gabriel

Aprovado como parte das exigências para a obtenção do grau de bacharel em **ZOOTECNIA** pela comissão examinadora.



Prof. Dr^a. **Andrea Maria Araújo Gabriel**

(Orientadora)



Dr^a. Arlene Sobrinho Ventura
(Médica Veterinária)



Mestranda: **Isabelle Zocolaro Nóia**

(Zootecnista)

Data de realização: 25 de agosto de 2020



Prof. Dr. Leonardo de Oliveira Seno

Presidente da comissão do TCC-Zootecnia

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, pelo dom da vida e por ter me ajudado durante toda a caminhada.

Aos meus pais Odília Matias de S. Rocha e João Maria Nery Rocha.

Ao meu irmão José Matheus de Souza Rocha e ao meu namorado Jean Carlos Cesário da Silva.

Ao meu avô paterno Nilo Pereira Rocha, que apesar de hoje não estar mais entre nós foi uma pessoa que sempre me ensinou e incentivou a correr atrás do que acreditava.

A todos os professores em geral, por todo o conhecimento passado durante esses anos.

Agradeço muito a professora Andrea Maria Araújo Gabriel pela orientação durante a minha graduação por me auxiliar em tudo que precisei, a senhora tem uma contribuição enorme em minha transformação durante esse período de graduação. A senhora é um exemplo de professora e orientadora.

Aos meus amigos Juliana Dias, Mirelly Tainá Ramos de Souza, Helen Chaves Henning, Bianca dos Santos, Giovana Urío e Alessandra Siqueira que foram pessoas essenciais e muito importantes nessa fase final da minha caminhada.

As minhas amigas da vida toda Andressa de Carli, Dayane Cristina da Silva e aos seus pais dona Katia Cristina e Sr. Nivaldo Cardoso por serem minha segunda família, agradeço por tudo.

À toda minha família, em especial meu ao meu pai João Maria Nery Rocha.

Muito obrigada!

RESUMO

O uso de produtos naturais com propriedades sedativas e anestésicas são importantes alternativas para minimizar o estresse decorrente das práticas envolvidas na aquicultura, uma vez que apresentam maior eficácia, segurança e menor risco de efeitos adversos, que produtos de origem sintética. O objetivo deste estudo foi avaliar os parâmetros hematológicos e termográficos de juvenis de pacu expostos ao estresse de manejo seguido de indução anestésica. Os juvenis ($30,36 \pm 01,37$ g; $9,27 \pm 1,42$ cm) foram expostos ao estresse de captura e manejo seguido de anestesia com óleo essencial de manjeriço *Ocimum basilicum*, para isso os peixes foram divididos em cinco grupos (12 peixes cada grupo): controle (manejo somente água), manejo com etanol ($600 \mu\text{L L}^{-1}$), manejo com óleo essencial de *O. basilicum* 100, 350 e 600 mg L^{-1} . Os peixes foram capturados e transferidos para três aquários contendo 4 L de água e óleo essencial de *O. basilicum* até atingirem estágio 3 de anestesia. Após este período, procedeu-se manejo de biometria, colheita sanguínea e avaliação termográfica. O uso deste óleo essencial em procedimentos de manejo de biometria não foi capaz de impedir alterações hematológicas relacionadas ao estresse de manejo em juvenis de pacu. A medição da temperatura cutânea usando termografia de infravermelho, fornece dados úteis para o entendimento dos efeitos da anestesia em peixes, contudo, maiores estudos são necessários para melhor compreensão do uso desta técnica como medida de bem-estar na piscicultura.

Palavras chave: Anestesia, hematologia, manjeriço, peixe, termografia.

ABSTRACT

The use of natural products with sedative and anesthetic properties are important alternatives to minimize the stress resulting from the practices involved in aquaculture since they have greater efficacy, safety and less risk of adverse effects, than products of synthetic origin. The aim of this study was to evaluate the hematological and thermographic parameters of pacu juveniles exposed to management stress followed by anesthetic induction. Juveniles (30.36 ± 01.37 g; 9.27 ± 1.42 cm) were exposed to capture and handling stress followed by anesthesia with *Ocimum basilicum* basil essential oil, for this, the fish were divided into five groups (12 fish each group): control (handling only water), handling with ethanol ($600 \mu\text{L L}^{-1}$), handling with essential oil of *O. basilicum* 100, 350 and 600 mg L^{-1} . The fish were captured and transferred to 5 aquariums of 30 L (1 aquarium for each treatment with 12 fish in each), were kept for 10 min in the aquariums according to the respective treatments. After this period, biometrics, blood collection and thermographic evaluation were carried out. The use of this essential oil in biometric management procedures was not able to prevent hematological changes related to management stress in pacu juveniles. The measurement of skin temperature using infrared thermography provides useful data for understanding the effects of anesthesia on fish, however, further studies are needed to better understand the use of this technique as a measure of well-being in fish farming.

Keywords: Anesthesia, hematology, basil, fish, thermography.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	8
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	9
2.1 Pacu.....	9
2.2 Estresse e anestésicos na criação de peixes	10
2.3 Marcadores de estresse em peixes	11
2.4 Óleo essencial- <i>Ocimum basilicum</i>	14
3. OBJETIVO	15
4. MATERIAL E MÉTODOS	15
4.1 Óleo essencial de <i>Ocimum basilicum</i>	15
4.2 Animais	15
4.3 Variáveis físico-químicas da água	15
4.4 Delineamento experimental.....	16
4.5 Análise hematológica e bioquímica	16
4.6 Análises dos dados termográficos	17
4.7 Análise estatística	17
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	17
6. CONCLUSÃO	22
7. REFERÊNCIAS	22

1- INTRODUÇÃO

A piscicultura é uma atividade que se encontra em alto desenvolvimento, tendo um crescimento anual médio próximo a 3%, visto que é responsável por grande parte da economia mundial pelo fato do pescado ser um dos principais produtos comercializados no mundo. No ano de 2017 foram produzidos 205 milhões de toneladas de pescado em todo o mundo, considerando a forma extrativista e de cultivo (FAO, 2019).

No que se refere a produção brasileira de pescado não é diferente, segundo dados da Associação Brasileira de Piscicultura, em 2019, a produção aumentou em 4,90% em relação ao ano anterior, chegando a 758.006 toneladas. Quando comparada a produção do ano de 2019 com a produção de seis anos atrás houve um crescimento de 31% no cultivo de peixes, mostrando que o país tem muito potencial para desenvolver essa atividade (PEIXE BR, 2020).

O Brasil se encontra na quarta posição no ranking mundial de produção de tilápia, essa espécie representa 57% da produção nacional, os peixes nativos também representam boa parte com 38% e as demais espécies participam com 5% de produção nacional (PEIXE BR, 2020).

Esse crescimento na produção de peixe se deve ao consumo do mesmo, que aumentou de forma significativa nos últimos anos. Ao comparar o consumo de pescado no mundo entre o ano de 1961 e 2016 houve aumento de 3,2 %, sendo superior ao crescimento da população que foi de 1,6% e também ao consumo de carne que foi de 2,8% (FAO, 2018). Ao fazer a mesma comparação em um período de cinco anos houve um aumento de 10%, visto que no ano de 2011 o consumo era de 18,5 kg por habitante ano, já no ano de 2016 passou a ser de 20,3 kg (FAO, 2016). Porém no continente asiático essa média é superior, sendo de 24 kg por habitante ano (FAO, 2018).

A tecnologia na área da piscicultura, também está crescendo cada vez mais conforme o decorrer da atividade. Em relação ao Brasil, a tecnologia ainda é baixa, já que em alguns lugares a produção de pescado é feita de forma manual, sendo um dos principais fatores críticos de ordem tecnológica que limitam o crescimento da cadeia, a disponibilidade de equipamentos próprios para a atividade; rações balanceadas adequadas à espécie e às regiões de produção; a utilização de tanques-rede de grande volume; e a adoção de sistemas produtivos mais intensivos (IPEA, 2017).

Apesar de todos esses aspectos positivos da piscicultura, o estresse é um fator que pode afetar negativamente essa atividade. O estresse pode ser causado através da captura, transporte e manuseio destes animais, o que causa uma série de reações fisiológicas nos mesmos, essas

reações devem ser consideradas tanto em relação ao tipo de resposta como também na caracterização do grau de tolerância do peixe referente ao ambiente no qual o mesmo se encontra.

Assim, as respostas de estresse apresentadas por esses animais constituem uma importante ferramenta para formular um procedimento de boas práticas de manejo, para que o peixe seja manuseado de forma a não comprometer seu desenvolvimento no sistema de criação e conseqüentemente a qualidade do produto final.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Pacu

O *Piaractus mesopotamicus*, mais conhecido como pacu representa uma das principais espécies de peixes nativos produzidos no Brasil (IBGE, 2020). Essa espécie de peixe apresenta ampla distribuição na América do Sul, na bacia dos rios Paraná, Paraguai e Uruguai, no entanto sua maior distribuição é na bacia do Paraguai, na planície alagada do Pantanal, sendo a espécie de maior importância comercial para a região (URBINATI *et al.*, 2013).

Essa espécie é caracterizada por apresentar boas características zootécnicas como alta taxa de crescimento, resistência a enfermidades e ao manejo, boa aceitação por parte do consumidor, alta taxa de fecundidade além de apresentar baixo índice de conversão alimentar, essa espécie pode atingir 20 quilos e até um metro de comprimento (URBINATI *et al.*, 2013).

Os juvenis de pacu são capazes de manter o peso estável, mesmo com alguns dias de restrição alimentar, independente da temperatura (SOUZA *et al.*, 2003). A alta densidade de estocagem também não interfere no rendimento de carcaça dessa espécie (BITTENCOURT *et al.*, 2010).

Em relação a comercialização, grande parte do consumo de pacu pertence aos estados da região Centro-Oeste, com destaque para Mato Grosso e Mato Grosso do Sul, já que a pesca nesses estados é mais abundante (RIBEIRO *et al.*, 2017).

2.2 Estresse e anestésicos na criação de peixes

O estresse é um termo que apesar de bem amplo pode ser definido como um conjunto de respostas não específicas do organismo mediante a situações que ameaçam desequilibrar sua homeostase, podendo ser de natureza química e física (BARTON, 2002).

Tratando-se do estresse na aquicultura há uma grande preocupação por conta dos efeitos negativos que o mesmo pode causar na produção, pois isso irá interferir diretamente na lucratividade (URBINATI & CARNEIRO, 2004). Sabe-se que na piscicultura diversos fatores contribuem para a causa do estresse como a qualidade da água, manipulação dos peixes, alimentação e também as interações biológicas (OBA *et al.*, 2009, VENTURA *et al.*, 2019).

Segundo Oba *et al.* (2009), a resposta ao estresse em peixes é apresentada em três níveis, definidos como primário, secundário e terciário, onde os mesmos tem início no sistema endócrino que apresentam um aumento sucessivo até que alcance o nível do organismo em geral. A resposta primária ocorre quando tem ativação dos centros cerebrais, o que acaba por liberar catecolaminas e corticosteroides, na resposta secundária ocorre a canalização das ações e dos efeitos imediatos destes hormônios tanto em nível sanguíneo como tecidual, o que também envolve o aumento da frequência cardíaca e aferição de oxigênio, já a resposta terciária é manifestada através do nível de população, sendo traduzida em inibição do crescimento, reprodução e resposta imunológica.

No contexto descrito por Iwama (1993), em produções intensivas de peixes, o estresse dos animais é praticamente inevitável. O estresse ocorre de duas maneiras diferentes, sendo importante diferenciá-las, o estresse agudo e o estresse crônico. O primeiro geralmente acontece durante o manejo dos animais, como no transporte ou durante a realização de biometrias, que leva os peixes a um estresse rápido. O segundo tipo de estresse é o crônico, em que as consequências geralmente são a redução do crescimento e ganho de peso, queda da resistência a patógenos, devido à resposta imunológica deprimida. Acontece em condições que mantêm os peixes permanentemente estressados, devido a agentes estressores de natureza química, como o pH incorreto, baixo nível de oxigênio dissolvido na água, concentração elevada de amônia e nitrito, decorrentes da degradação da matéria orgânica, poluentes orgânicos e inorgânico, ou podem ser de natureza física, como a alta densidade populacional, confinamento e captura (MORAES *et al.*, 2004, COSTA *et al.*, 2004, CARVALHO & FERNANDES, 2006).

Buscando melhorar as condições que submetem esses animais ao estresse, algumas medidas podem ser tomadas como, o uso de anestésicos, que tem apresentado benefícios durante o transporte, já que estes diminuem a excitação dos peixes e isso acaba evitando injúrias físicas desses animais, assim como redução na excreção de amônia, gás carbônico e consumo

de oxigênio, o que conseqüentemente diminui a deterioração no que se refere a qualidade de água (SILVEIRA *et al.*, 2009).

A utilização de anestésicos apresenta eficácia para controlar eventuais desconfortos, além de facilitar o manejo geral. Dentre os anestésicos utilizados na piscicultura está o eugenol, conhecido também como óleo de cravo, um produto natural, efetivo e de baixo custo, além de ser seguro e de fácil acesso (ROTILI *et al.*, 2012). Segundo Barbosa *et al.* (2007), esse produto não deixa traços tóxicos nos animais aquáticos previamente expostos, e o uso do mesmo como anestésico já foi comprovado em algumas espécies de peixes como o matrinxã (*Brycon cephalus*), tambaqui, (*Colossoma macropomum*) e também em juvenis de tilápia (*Oreochromis niloticus*) (INOUE *et al.*, 2003, ROUBACH *et al.*, 2005, DELBON & PAIVA, 2012).

Simões *et al.* (2012) testaram o óleo de cravo como anestésico em juvenis de tilápia do Nilo e verificaram que a concentração de 250 mg L⁻¹ de óleo de cravo foi mais adequada para a indução de anestesia cirúrgica. Já para a anestesia voltada para a biometria e breve manejo, a concentração mais adequada foi de 150 mg L⁻¹. Foi verificado também que a exposição à concentração ideal de óleo de cravo durante dez minutos não causou estresse severo, ocorrendo alterações após a anestesia somente nos níveis de glicose e hematócrito.

O óleo essencial de menta é outra alternativa para usar como anestésico em peixes, suas propriedades anestésicas são o mentol e o cineol. A eficácia desse produto já foi comprovada em algumas espécies como *Piaractus mesopotamicus*, *Salminus brasiliensis* e *Centropomus parallelus*, (GONÇALVES *et al.*, 2008, PÁDUA *et al.*, 2010, SOUZA *et al.*, 2012). De acordo com Simões & Gomes (2009) a concentração recomendada de mentol em tilápias é de 150-200mg L⁻¹, pois os peixes são induzidos a este estágio de anestesia, em tempos semelhantes à concentração de 250 mg L⁻¹.

2.3 Marcadores de estresse em peixes

A avaliação dos índices de estresse em peixes é feita através das alterações fisiológicas hormonais, onde os principais hormônios representantes do estresse são o cortisol e a glicose plasmática. A avaliação do sangue desses animais também pode ser usada como ferramenta para indicação no aumento das condições de estresse, podendo identificar alterações na contagem de hematócritos e hemoglobinas, além de aumentar ou diminuir, o que varia de acordo do tipo de agente estressor a qual o animal é submetido (TAVARES-DIAS & MORAES, 2004).

O cortisol ou hormônio do estresse é produzido no eixo hipotálamo- hipófise- adrenal, e quando o animal é exposto a alguma situação que causa estresse como dor, fome e alta

densidade populacional, acaba estimulando o hipotálamo que secreta o fator liberador de corticotrofina (CRH), em seguida ocorre o estímulo da hipófise que libera o hormônio adrenocorticotrófico (ACTH), na corrente sanguínea, o ACTH atinge o tecido interrenal e posteriormente ocorre a liberação do cortisol (DINIZ & HONORATO, 2012). A dosagem do cortisol é um indicador que pode ser utilizado em qualquer estágio de desenvolvimento dos peixes (WENDELAAR BONGA, 1997).

O cortisol em peixes atua via dois tipos de frações, mineralocorticóides e glicocorticóides. Em sua função mineralocorticóide, o cortisol atua na regulação osmótica e iônica; enquanto que na função como glicocorticóide, ele estimula a glicogenólise e a gliconeogênese hepática (WENDELAAR BONGA, 1997). Dessa forma, a glicose tem sido empregada rotineiramente como indicador de estresse, e os níveis basais de peixes teleósteos podem ser facilmente detectados (SILVA *et al.*, 2009).

Segundo Small *et al.* (2004), o aumento dos níveis de cortisol em algumas espécies de peixes tem prejudicado a capacidade reprodutiva, onde a exposição a um longo período de estresse severo, pode provocar alterações nos processos reprodutivos, causar diminuição de hormônios esteroides, queda gradual na produção de testosterona plasmática e ainda redução no tamanho de ovas e larvas, além de provocar redução na taxa de crescimento e desenvolvimento.

Como mencionado acima outro indicador de estresse que é bastante utilizado são os níveis de glicose no sangue, onde o aumento do mesma representa que o animal está passando por algum fator estressante, provocando maior consumo de energia no seu organismo, como forma de fuga de determinada condição de estresse a qual o peixe está sendo submetido (MORGAN & IWAMA, *et al.*, 1997). Este tipo de avaliação pode ser realizado no local de criação, com a utilização de medidores de glicose que são facilmente encontrados no mercado (SILVEIRA *et al.*, 2009).

A avaliação hematológica também constitui um bom parâmetro de avaliação, uma vez que, após a liberação de hormônios glicocorticóides, quer seja endógeno ou exógeno, se reflete de forma quantitativa sobre os leucócitos (RIJNBEEK & MOL, 1997). Devido à ação modeladora do cortisol ocorre uma diminuição da atividade fagocitária e da migração de leucócitos para a região inflamada. Observa-se concomitantemente neutrofilia e linfopenia, em que o aumento de neutrófilos se deve a diminuição na migração de neutrófilos para o compartimento tecidual (diapedese), e aumento do seu tempo na circulação, ou seja, um desvio do compartimento marginal para o circulante. Já a diminuição de linfócitos se deve pela

redistribuição dos linfócitos circulantes, com sequestro nos tecidos linfóides (MAZEAUD et al., 1977, RIJNBEEK & MOL, 1997).

A análise termográfica também conhecida como termografia do infravermelho, é uma técnica de exame bastante utilizada, com a função de identificar qualquer tipo de alteração que ocorre no organismo, essa avaliação é feita através da temperatura corporal. Com essa avaliação da temperatura é possível obter perfis do corpo do indivíduo com diferentes graus de calor e em sequência é identificado se há qualquer tipo de imperfeição interna (WILLIAMS *et al.*, 1980).

Durante o processo da termografia o calor é emitido por uma onda de energia térmica, que não pode ser vista a olho nu, onde a câmera termográfica reconhece e identifica a energia térmica que o corpo do animal ou o corpo humano emitem, formando assim uma imagem que é definida e interpretada através das cores (GIRLEO & MEOLA, 2002).

A radiação infravermelha que é formada durante o processo é muito utilizada em animais para identificar os níveis de estresse, onde essa identificação é feita através do fluxo sanguíneo que sofre alterações (STERWART *et al.*, 2005). A alta capacidade de reconhecimento de temperatura do aparelho vai do quente ao frio, identificando assim alterações mínimas que ocorre no corpo do animal (TURNER & EDDY, 2001).

2.4 Óleo essencial - *Ocimum basilicum*

O *Ocimum basilicum*, conhecido como manjeriço, é uma substância natural, pertencente à família Lamiaceae, a mesma vem sendo muito utilizada para reduzir o estresse de manejo em peixes, já que apresentam grande potencial para ser usado como anestésico natural (MACHADO *et al.*, 2011). As plantas do gênero *Ocimum* são caracterizadas por serem ricas em óleos essenciais, que são amplamente utilizados na indústria alimentícia, farmacêutica e também cosmética, algumas espécies deste gênero são utilizadas na forma de extrato de folhas frescas (URITU *et al.*, 2018).

O óleo essencial de *O. basilicum* possui propriedades sedativas e anestésicas comprovadas em diversas espécies de peixes como relatado por alguns autores, dentre as espécies estão o linguado (*Paralichthys orbignyanus*), juvenis de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*), peixe palhaço (*Amphiprion clarkii*), jundiás (*Rhamdia quelen*), e o tambaqui (*Colossoma macropomum*) (BENOVIT *et al.*, 2012, LIMA NETTO *et al.*, 2017, CORREIA *et al.*, 2018, SILVA *et al.*, 2012, BOIJINK *et al.*, 2016).

O óleo essencial de *O. basilicum* também funciona como sedativo e modulação de frequência ventilatória e no transporte, como relatado por Ventura et al. (2020a), que testaram

o óleo em tilápias-do-Nilo *O. niloticus*. Segundo Arenal *et al.* (2012), o extrato aquoso de *Ocimum tenuiflorum* apresentou benefícios na redução dos níveis de glicose no sangue de tilápia-do-Nilo após a hiperglicemia induzida, sendo bem promissor sua utilização na aquicultura.

O óleo essencial de *Ocimum basilicum* é fácil de ser encontrado nas regiões tropicais e subtropicais da América do sul, o mesmo é utilizado como condimentos na culinária, planta medicinal e também como agente para controlar insetos (URITU *et al.*, 2018).

3. OBJETIVO

O objetivo do presente trabalho foi avaliar os parâmetros hematológicos e termográficos de juvenis de pacu expostos ao estresse de manejo seguido de indução anestésica.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Óleo essencial de *Ocimum basilicum*

O óleo essencial utilizado no presente estudo foi adquirido comercialmente (Phytoterápica®, Nova Cantareira, Brasil). As concentrações do óleo essencial foram diluídas na proporção de 1:10 com etanol para obtenção das soluções anestésicas utilizadas.

4.2 Animais

Juvenis de pacu com peso de $30,36 \pm 01,37$ g e comprimento total de $9,27 \pm 1,42$ cm (n=60) foram mantidos em tanque de fibra de vidro de 500L por 30 dias para aclimação nas instalações do Laboratório de Produção Aquícola (UFGD), município de Dourados (22° 14'51.91"S/ 54°47'23.11"O), Mato Grosso do Sul -Brasil. Os peixes foram alimentados até a saciedade aparente três vezes ao dia com dieta comercial (Do peixe Douramix®) com pélete de 4 - 5 mm (36% de proteína bruta; 6,0% fibra bruta; 11,0% de matéria mineral; 6,0% de extrato etéreo; 12,0% de umidade; e 2,2% de cálcio). A alimentação foi suspensa 24 horas antes do início do experimento.

4.3 Variáveis Físico-químicas da água

Os seguintes parâmetros físico-químicos da qualidade de água foram mensurados, oxigênio dissolvido ($5,73 \pm 0,95 \text{ mg L}^{-1}$) e temperatura ($25,16 \pm 1,45 \text{ °C}$) com auxílio do oxímetro portátil (Ysi 550^a – YSI incorporated®), O pH ($6,69 \pm 0,39$) com medidor de pH (HI8314 – Hanna instruments) e a concentração de nitrogênio amoniacal total (NAT) ($0,10 \pm 0,29 \text{ mg L}^{-1}$), mensurada por kit colorimétrico (Alfakit®), valores estes considerados ideais para cultivo de peixes tropicais segundo (BOYD, 1998).

4.4 Delineamento experimental

Após o período de aclimação, os juvenis de pacu ($30,36 \pm 01,37 \text{ g}$; $9,27 \pm 1,42 \text{ cm}$; $n = 60$), foram expostos ao estresse de captura e manejo seguido de anestesia com óleo essencial de manjerição *Ocimum basilicum*, para avaliar os efeitos da anestesia na resposta ao manejo de biometria, hematologia, bioquímica sanguínea e termografia corporal. Os peixes foram divididos em cinco grupos (12 peixes cada grupo): controle (manejo somente água), manejo com etanol ($600 \mu\text{L L}^{-1}$), manejo com óleo essencial de *O. basilicum* 100, 350 e 600 mg L^{-1} equivalente a 111, 389 e $667 \mu\text{L L}^{-1}$, respectivamente (considerando que a densidade do óleo essencial de *O. basilicum* foi de $0,90 \text{ g mL}^{-1}$). As concentrações do óleo essencial de *O. basilicum* foram escolhidas com base nos critérios de promoção de anestesia leve e profunda de acordo com Woody *et al.* (2002) em teste piloto. O etanol foi avaliado se era capaz de induzir sedação ou anestesia em juvenis de pacu na concentração de $600 \mu\text{L L}^{-1}$, utilizada para diluir a maior concentração de óleo essencial de *O. basilicum*.

Os peixes foram capturados e transferidos para três aquários contendo 3 L de água e de óleo essencial de *O. basilicum* em concentrações de 100, 350 e 600 mg L^{-1} . As concentrações foram diluídas 1:10 com etanol. Quatro peixes foram anestesiados por aquário, um após o outro (4 peixes x 3 repetições por tratamento). O ensaio foi realizado da menor concentração para a maior, para garantir que não houvesse efeitos residuais da adsorção do vidro. A anestesia (perda total de equilíbrio sem resposta a estímulos) foi avaliada até 10 minutos, sendo cada peixe utilizado apenas uma vez. Após os peixes serem considerados anestesiados em estágio 3 de acordo com Woody *et al.* (2002), procedeu-se manejo de biometria e exposição ao ar dos peixes de todos os tratamentos por 1 minuto de acordo com Ventura *et al.* (2019), para coleta de amostras sanguíneas e avaliação termográfica. A sobrevivência foi monitorada até 96 h após a indução anestésica. A metodologia deste experimento foi aprovada pelo Comitê de Ética e Bem-Estar Animal da Universidade Federal da Grande Dourados (n° 42/2016).

4.5 Análise hematológica e bioquímica

Amostras de sangue venoso-arterial foram colhidas da veia caudal, usando seringa com EDTA 10% (ácido etilenodiaminotetracético) como anticoagulante sendo separadas em duas alíquotas. Uma das alíquotas foi utilizada nas análises hematológicas: hematócrito, hemoglobina, número total de eritrócitos (RBC), volume corpuscular médio (VCM), concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) e também foram confeccionadas extensões sanguíneas em duplicata, para contagem total e diferencial de trombócitos e leucócitos, conforme a metodologia descrita por (RANZANI-PAIVA *et al.*, 2013).

A segunda alíquota da amostra do sangue foi centrifugada (Fanem Centrimicro, Brasil) a 3000 rpm por 7 min para obtenção de plasma, e em seguida foi armazenado a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ para posterior análises bioquímicas: glicose, proteína plasmática total e cloreto (Cl^{-}), por espectrofotometria (1203 UV, Shimadzu, Japão) com o auxílio de kit comercial (Labtest[®]). As amostras, foram analisadas em pool (3 peixes para 1 amostra), sendo analisado 4 amostras por tratamento.

4.6 Análises dos dados termográficos

Concomitantemente a colheita de sangue foi realizada avaliação termográfica dos animais, antes de serem anestesiados, enquanto anestesiados e após recuperação anestésica, da região cefálica, corpo e cauda dos juvenis de pacu utilizando imagens termográficas, obtidas com auxílio da câmera termográfica Thermal Imager (Testo 880[®]). Os termogramas foram tratados em programa tratamento de imagens termográficas (Flir Tools 2.1[®]-E40). Os dados de temperatura dos alvos selecionados foram exportados e tratados em planilhas eletrônicas (Microsoft[®] Office Excel, 2013), e extraídos os valores médios, máximos, mínimos, bem como as amplitudes térmicas nos diferentes alvos capturados. A temperatura em cada alvo pode ser observada pelo padrão de cor que indica a variação dos valores térmicos, conforme o espectro eletromagnético identificado pela paleta de cor no termograma.

4.7 Análise estatística

Com os dados obtidos foi realizada análise de regressão polinomial. Utilizou-se os níveis de significância de 5% em ambas as análises. As análises foram realizadas utilizando o software SAS versão 9.4 (Statistical Analysis System, 2015).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O etanol não teve influência ($p>0,05$) sobre os parâmetros hematológicos avaliados nos juvenis de pacu. O percentual de hematócrito não diferiu ($p>0,05$) entre as diferentes dosagens do óleo essencial de *O. basilicum*. O teor de hemoglobina, eritrócitos e CHCM apresentou um efeito linear crescente ($p<0,05$) em relação aos diferentes níveis de anestésico utilizado. Contudo o VCM sofreu efeito linear decrescente, em que a maior concentração do óleo essencial de *O. basilicum* reduziu o volume das hemácias. Os parâmetros bioquímicos de proteína plasmática total, glicose e cloreto não diferiram entre os tratamentos ($p>0,05$) (Tabela 1). Após o período experimental, não foi registrada mortalidade nos tratamentos.

Tabela 1. Valores médios de parâmetros hematológicos e bioquímicos de juvenis de peixe pacu submetidos ao estresse de manejo seguido de indução anestésica

Parâmetros	Etanol	<i>Ocimum basilicum</i> (mg L ⁻¹)				EPM ¹	VALOR DE P ²	
		0	100	350	600		LINEAR	QUAD
Hematócrito (%)	29,75	26,00	26,75	26,00	26,50	0,92	0,9365	0,9526
Hemoglobina (g dl ⁻¹)	5,07	4,91	5,00	6,99	7,70	0,45	0,0072	0,6662
Eritrócitos (x10 ⁻⁶)	0,695	0,61	1,12	1,60	1,63	0,15	0,0074	0,3446
VCM	479,42	996,45	246,37	205,73	166,91	-	0,0226	0,1260
CHCM	18,23	18,58	18,76	26,92	29,19	1,53	0,0009	0,6170
Proteínas totais (mg dl ⁻¹)	3,75	4,10	4,15	4,35	4,65	0,11	0,1014	0,6017
Glicose (mg dl ⁻¹)	63,50	56,82	65,80	58,64	80,31	4,33	0,1050	0,4468
Cloreto (mE dL ⁻¹)	331,06	330,00	324,10	333,34	339,65	5,11	0,4502	0,5876

¹ Erro padrão da média, ² probabilidade

Os monócitos e LG-PAS circulantes no sangue apresentaram efeito linear crescente ($p<0,05$), em relação as concentrações anestésicas utilizadas. Quanto aos linfócitos foi observado efeito quadrático com pico máximo na concentração de 350 mg L⁻¹ do óleo essencial de *Ocimum basilicum*. As demais células não diferiram ($p>0,05$) em relação aos diferentes tratamentos (Tabela 2).

Tabela 2. Valores médios do leucograma de juvenis de pacu submetidos ao estresse de manejo seguido de indução anestésica.

Parâmetros	Etanol	<i>Ocimum basilicum</i> (mg L ⁻¹)				EPM ¹	VALOR DE P ²	
		0	100	350	600		LINEAR	QUAD
Leucócitos (µL)	43068,75	25878,00	26741,00	35128,00	29866,00	-	0,6111	0,7314
Trombócitos(µL)	43068,75	14373,00	12811,00	25278,00	28078,00	-	0,2147	0,8156
Neutrófilo(µL)	32177,19	21429,00	8004,41	8324,48	10213,00	-	0,0703	0,0639
Eosinófilo(µL)	1407,61	1764,70	847,60	523,18	929,90	-	0,2236	0,2042
Linfócito(µL)	10317,00	9519,00	20406,00	21090,00	12654,00	-	0,1614	<0,0001
LG-PAS*(µL)	1460,71	207,25	2078,10	2890,58	3986,68	-	0,0067	0,6494
Monócito(µL)	2736,00	0	1881,00	1311,00	3990,00	-	<0,0001	0,3130
Leucócito imaturo(µL)	26091,01	11379,00	16296,00	23061,00	22134,00	-	0,1540	0,6197
Basófilo(µL)	0	0	0	0	0	0	0	0

¹ Erro padrão da média, ² probabilidade * LG-PAS-leucócito granular PAS-positivo

Quanto aos termogramas dos juvenis de pacu, foram obtidos registros térmicos da cabeça, corpo e cauda dos animais demonstrados nas imagens no infravermelho indicando padrões em diferentes alvos. Na avaliação termográfica das regiões corporais do pacu, o corpo sofreu efeito linear e quadrático, em função ao momento da foto, ocorrida antes da exposição a anestesia, animal já anestesiado ou após a recuperação ao processo anestésico, como também ao tratamento, além da interação entre o tratamento e o tempo. Para a cabeça e a cauda ocorreu efeito quadrático a concentração anestésica utilizada (Tabela 3).

Tabela 3. Avaliação termográfica de partes do corpo de juvenis de peixe pacu submetidos ao estresse de manejo seguido de indução anestésica.

ITEM	<i>Ocimum basilicum</i> (mg L ⁻¹)				EPM ¹	VALOR DE P ²				
	0	100	350	600		Tratamento	Tempo	Interação	Linear	Quadrática
Cabeça	29,92	26,45	26,74	28,03	3,77	0,0085	0,8089	0,8757	0,0892	0,0070
Corpo	28,99	26,64	26,91	28,35	3,33	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,0002	<0,0001
Cauda	28,12	25,89	26,53	27,84	3,46	<0,0001	0,1452	0,1818	0,8054	<0,0001

¹ Erro padrão da média, ² probabilidade

Como observado anteriormente não houve efeito dos tratamentos sobre os parâmetros hematológicos como hematócrito e proteína plasmática total. Os eritrócitos transportam oxigênio e gás carbônico por meio da hemoglobina como descrito por Tavares Dias & Moraes, (2004), assim os efeitos lineares crescentes no teor de hemoglobina, número de eritrócitos e CHCM podem ser indicativos do aumento da demanda de oxigênio durante a anestesia. Alterações como estas podem ser atribuídas a hemoconcentração (Morales *et al.*, 2005) em atendimento ao aumento da demanda fisiológica imposta por uma situação adversa (WOJTASZEK *et al.*, 2002; VENTURA *et al.*, 2020a ou b). Portanto, essas alterações hematológicas observadas, indicam que o óleo essencial de *O. basilicum*, nestas concentrações, não foi efetivo na prevenção do estresse em situações de manejo, exigindo dos peixes mecanismos de resposta adaptativa. Contudo em juvenis de pacus anestesiados com óleo essencial de *Lippia sidoides*, mentol e eugenol, não foi observado alteração nos parâmetros hematológicos logo após o manejo e anestesia (VENTURA *et al.*, 2019, SANCHEZ *et al.*, 2014). Isto pode ser devido as diferentes composições dos agentes anestésicos utilizados, bem como a concentração anestésica utilizada (BOWKER *et al.*, 2015; BALDISSEROTTO *et al.*, 2018).

Com aumento dos níveis de cortisol no sangue ocorrem às modificações fisiometabólicas, observadas por meio do aumento do número de eritrócitos e queda no VCM corroborando os resultados obtidos no presente estudo (VOSYLIENÉ, 1999). Assim é possível inferir que as concentrações anestésicas avaliadas induziram ao nível profundo de anestesia com alteração no fluxo sanguíneo e dinâmica cardíaca sendo facilmente observado pela redução nos VCM de acordo com aumento da concentração anestésica.

A determinação da proteína plasmática total é de grande importância clínica, pois essas concentrações podem ser alteradas, por desequilíbrio osmótico entre os compartimentos extracelular e intracelular do plasma e qualquer estresse que induza esse desequilíbrio pode levar a um declínio na proteína plasmática (BARTON & IWAMA, 1991). Contudo não foi observado alteração neste parâmetro, corroborando a hipótese que o manejo seguido de anestesia não induziu um desequilíbrio osmorregulatório, conforme observado nos níveis de cloreto.

Em consequência da ativação do eixo hipotálamo-hipófise- interrenal em situações estressantes, podem ocorrer alterações metabólicas, como o aumento de glicose e distúrbios osmorregulatórios em peixes (BARTON, 2002). No presente estudo o estímulo de anestesia e manejo com óleo essencial de *O. basilicum* não foi capaz de causar alteração na concentração plasmática de glicose e cloreto.

A variação do número de leucócitos circulantes pode ser atribuída a uma resposta generalizada do sistema imune, acionado pelo estresse fisiológico e consequente estado de saúde afetado (VOSYLIENÉ, 1999). O aumento de leucócitos pode ser observado no estresse agudo na maioria das espécies de peixes, sendo considerado como uma tentativa de recuperar a homeostase em desequilíbrio; o decréscimo na contagem de leucócitos pode ser atribuído pelo enfraquecimento do sistema imunológico (RANZANI-PAIVA *et al.*, 2013). Contudo, no presente estudo, o número de leucócitos circulantes não diferiu entre os tratamentos. Resultados estes que diferem do observado em peixes expostos ao estresse de exposição prolongada ao ar com aumento no número de leucócitos circulantes sugerindo que o estresse induz a produção de novas células para substituir as antigas, induzindo ativação imunológica (MATTIOLI *et al.*, 2019). Variação esta que pode ser comprovada pelos vários fatores endógenos e exógenos responsáveis pela alteração nas condições hematológicas das espécies de peixes (AHMED *et al.*, 2020). Além disso o efeito do estímulo estressor sobre os parâmetros hematológicos depende do nível de estresse e do tempo de exposição.

Os linfócitos são responsáveis pela imunidade humoral e celular do organismo (TAVARES-DIAS & OLIVEIRA, 2009). Foi observado aumento no número de linfócitos até a concentração de 350 mg L⁻¹ de óleo essencial de *O. basilicum*, resultados semelhantes foram obtidos em tambaquis *Colossoma macropomum* anestesiados com óleo de cravo e benzocaína (PÁDUA *et al.*, 2013). Contudo, na maior concentração anestésica utilizada, o número de linfócitos circulantes reduziu, isto se deve possivelmente a ação do aumento do cortisol plasmático, desencadeado pela concentração anestésica, indicando efeito estressor. Com a linfocitopenia observada no presente estudo é possível inferir que os peixes se tornam susceptíveis a invasão de microorganismos permitindo com que infecções se propaguem nos animais (PICKERING & POTTINGER, 1985).

Os monócitos atuam na reação inflamatória e resposta imunológica nas quais ocorre a fagocitose, sendo de extrema importância aos mecanismos de defesa do hospedeiro (THRALL *et al.*, 2007). Com o aumento crescente desta célula no sangue periférico pode-se inferir que o aumento das concentrações anestésicas induziu situação de estresse nos peixes, em que o organismo estaria tentando reverter tal condição adversa, pelo aumento das células de defesa. O aumento no número de leucócitos granulares PAS-positivos está relacionado ao estresse (TAVARES-DIAS & OLIVEIRA, 2009). Resultados semelhantes foram observados em tambaqui *C. macropomum* anestesiados com óleo de cravo (PÁDUA *et al.*, 2013). Portanto, quanto maior a concentração anestésica do óleo essencial de *O. basilicum*, maior o nível de estresse induzido em juvenis de pacu. Os leucogramas de peixes também são influenciados por

diversos fatores (CLAUSS *et al.*, 2008). Contudo, no presente estudo o número de trombócitos, neutrófilos, eosinófilos, basófilos e leucócitos imaturos, não diferiram em relação aos tratamentos expostos. Isso pode ser atribuído possivelmente ao fato de que alguns peixes são mais sensíveis ao estresse, enquanto outros possuem maior capacidade de tolerância (AHMED *et al.*, 2020).

O uso da termografia de infravermelho, tem diversas vantagens como a portabilidade, a ausência de contato de eletrodos ou qualquer outra superfície com o animal, evitando alterações induzidas pelo estímulo cutâneo, rapidez na obtenção do termograma (fração de segundos), registro de dados em forma digital, permitindo uma análise estatisticamente confiável. A temperatura média da água do tanque de manutenção e aquários de indução anestésica foi de 25,0 °C. Ao analisar as condições térmicas dos juvenis de pacus, antes, anestesiado e após anestesia verificou-se que as temperaturas na cabeça, corpo e cauda apresentaram médias em torno de 25,89°C e 29,92°C, com variações entre os tratamentos nos animais estudados. Embora os peixes sejam animais de sangue frio a temperatura expressou rápidas variações, entre os tratamentos para a cabeça e cauda, com interações tempo tratamento para o corpo.

6. CONCLUSÃO

O óleo essencial de *Ocimum basilicum* nas concentrações avaliadas não foi capaz de mitigar os efeitos do estresse de manejo sobre os parâmetros hematológicos de juvenis de pacu. O estresse de manejo aliado as diferentes doses anestésicas utilizadas são capazes de influenciar os parâmetros hematológicos e termográficos de juvenis de pacu. Sendo necessários maiores estudos para determinação da melhor dosagem a ser utilizada com intuito de mitigação de estresse em práticas de manejo.

7. REFERÊNCIAS

AHMED, I.; RESHI, Q. M.; FAZIO, F. The influence of the endogenous and exogenous factors on hematological parameters in different fish species: a review. **AquacultureInternational**, v. 28, p. 869–899, 2020.

ARENAL, A.; MARTIN, L.; CASTILLO, N. M.; TORRE, D.; TORRES, U.; GONZALEZ, R. Extrato aquoso de *Ocimum tenuiflorum* diminui os níveis de sangue glicose na tilápia

hiperglicêmica induzida (*Oreochromis niloticus*). **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, p. 634-637, 2012.

BALDISSEROTTO, B.; BARATA, L.E.S., SILVA, A.S., LOBATO, W.F.F., SILVA, L.L., TONI, C., SILVA, L.V.F. Anesthesia of tambaqui *Colossoma macropomum* (Characiformes: Serrasalminidae) with the essential oils of *Aniba rosaeodora* and *Aniba parviflora* and their major compound, linalool. **Neotropical Ichthyology**, v. 16, p. 1-6, 2018.

BARBOSA, L. M. G. et al. Respostas metabólicas do matrinxã (*Brycon amazonicus*) submetido a banhos anestésicos de eugenol. **Acta Scientiarum Biological Sciences**, v. 29, n. 3, p. 255-260, 2007.

BARTON, B. A.; IWAMA, G. K. Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of corticosteroids. **Annual Review of Fish Diseases**, v.1, p. 3-26, 1991.

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

BENOVIT, S.C.; GRESSLER, L.T.; SILVA, L.S.; GARCIA, L. O.; OKAMOTO, M. H.; PEDRON, J. S.; BALDISSEROTTO, B. Anesthesia and transport of Brazilian flounder, *Paralichthys orbignynus*, with Essential Oil of *aloesia gratissima* and *Ocimum gratissimum*. **Journal of the World Aquaculture Society**, v.43, n.6, p. 896-900, 2012.

BITTENCOURT, F.; FEIDEN, A.; SIGNOR, A.A.; BOSCOLO, W.R.; LORENZ, E.K.; MALUF, M.L.F. Densidade de estocagem e parâmetros eritrocitários de pacus criados em tanques-rede. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, n. 11, p. 2323-2329, 2010.

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

BOWKER, J.D.; TRUSHENSKI, J.T.; GLOVER, D.C.; CARTY, D.G.; WANDELEAR, N. Sedative options for fish research: a brief review with new data on sedation of warm, cool, and cold-water fishes and recommendations for the drug approval process. **Reviews in Fish Biology and Fisheries**, v. 25, p. 147–163, 2015.

BOYD, C.E. **Water quality for pond aquaculture**. International Center of Aquaculture and Aquatic Environments, Alabama Agricultural Experiment Station, Auburn University, 1998. 37p.

CARVALHO, C.S.; FERNANDES, M.N. Effect of temperature on copper toxicity and hematological responses in the neotropical fish *Prochilodus scrofa* at low and high pH. **Aquaculture**, v. 251, p.109-117, 2006.

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

COSTA, O.F.T.; FERREIRA, D.J.S.; MENDONÇA, F.L.P.; FERNANDES, M.N. Susceptibility of the amazonian fish, *Colossoma macrospomun* (Serrasalminae) to short-term exposure to nitrite. **Aquaculture**, v. 232, p. 627-636, 2004.

DELBON, M. C. E.; PAIVA, M. J. T. R. Eugenol em juvenis de tilápia do Nilo: concentrações e administrações sucessivas. **Boletim do Instituto de Pesca**, São Paulo, v. 38, n. 1, p. 43-52, 2012.

DINIZ, N.M.; HONORATO, C.A. Algumas alternativas para diminuir os efeitos do estresse em peixes de cultivo- revisão. **Arquivo de Ciências Veterinárias e Zoologia UNIPAR**, Umuarama, v.15, n. 2, p. 149-154, 2012.

FAO., 2016. Organização das Nações Unidas para Alimentação e a Agricultura. Disponível em: <http://www.fao.org/brasil/noticias/detail-events/pt/c/423722/>. Acessado em: 03.06.2020.

GIRLEO, G.; MEOLA, C. Comparison between pulsed and modulated thermography in glass-epoxy laminates. **NDT&E International**, London, v.35, n. 5, p. 287-292, 2002.

GONÇALVES, A. F. N.; SANTOS, E. C. C.; FERNANDES, J. B. K.; TAKAHASHI, L.S. Mentol e eugenol como substitutos da benzocaína na indução anestésica de juvenis de pacu. **Acta Scientiarum Animal Sciences**, Maringá, v. 30, n. 3, p. 339-344, 2008.

IBGE., 2020. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – Produção de aquicultura. Disponível em: <http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/tabela/listabl.asp?c=3940&z=t&o=21>. Acessado em 25.07.2020.

INOUE, L.A.K.A., SANTOS NETO, C.D.; MORAES, G. Clove oil as anaesthetic for juveniles of matrinxã *Brycon cephalus* (Gunther, 1869). **Ciência Rural**, v.33 n.5, p.943-947,2003.

IWAMA, G.K. **Intensive fish productions, Guided Independent Study: Course manual**. UBC Access, University of British Columbia, Vancouver. 1993. 130p.

LIMA-NETTO, J.D.; OLIVEIRA R. S.M.; COPATTI, C.E. Efficiency of essential oils of *Ocimum basilicum* and *Cymbopogon exuosus* in the sedation and anaesthesia of Nile tilapia juveniles. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 89, p. 2971-2974, 2017.

MACHADO, F. M. V. F.; BARBALHO, S. M.; SILVA, T. H. P.; RODRIGUES, J. S.; GUIGUER, E. L.; BUENO, P. C. S.; SOUZA, M. S. S.; DIAS, L. S. B.; WIRTTIJORGE, M. T.; PEREIRA, D. G.; NAVARRO, L. C.; SILVEIRA, E. P.; ARAÚJO, A.C. Effects of the use of basil (*Ocimum basilicum* L.) in biochemical profile of Wistar rats. **Journal of Health Sciences Institute**, v. 29 n.3, p.191- 194, 2011.

MATTIOLI, C. C.; TAKATA, R.; LEME, F. de O. P.; COSTA, D. C.; KENNEDY LUZ, R. Physiological and metabolic responses of juvenile *Lophiosilurus alexandri* catfish to air exposure. **Fish Physiology Biochemistry**, v. 45, p. 455–467, 2019.

MAZEAUD, M.M.; MAZEAUD, F.; DONALDSON, E.M. Primary and secondary effects of stress in fish: Some new data with a general review. **Transactions of The American Fisheries Society**, v. 106, p. 201-212, 1997.

MORAES, G.; POLEZ, V.L.P.; IWAMA, G.K. Biochemical responses of two erythrinidae fish to environmental ammonia. **Brazilian Journal Biology**, v. 64, p. 95-102, 2004.

MORALES, A.E.; CARDENETE, G.; ABELLÁN, E.; GARCÍA-REJÓN, L. Stress- related physiological responses to handling in common dentex (*Dentex dentex* Linnaeus, 1758). **Aquaculture Research**, v. 36, p. 33–40, 2005.

MORGAN, J.D.; IWAMA, G.K. Medições de estados estressados no campo. **Série – sociedade de seminários para biologia experimental**, v.62, p. 247-269, Cambridge University Press, 1997.

OBA, E.T.; MARIANO, W.S.; SANTOS, L.R.B. Estresse em peixes cultivados: agravantes e atenuantes para o manejo rentável. In TAVARES-DIAS, M. **Manejo e Sanidade de Peixes em Cultivo**, Embrapa Amapá, Macapá, 2009.

PÁDUA, S.B.; MARTINS, M.L.; CARRIJO-MAUAD, J.R.; JERÔNIMO, G.T.; DIAS-NETO, J.; PILARSKI, F. First record of *Chilodonella hexasticha* (Ciliophora: Chilodonellidae) in Brazilian cultured fish: a morphological and pathological assessment. **Veterinary Parasitology**, v. 191, p. 154-160, 2013.

PEIXE BR., 2020. Associação Brasileira da Piscicultura. Disponível em: <https://www.peixebr.com.br/anoario-2020/>. Acessado em: 27.05.2020.

PICKERING, A.D.; POTTINGER, T.G. Cortisol can increase the susceptibility of brown trout, *Salmo trutta* L., to disease without reducing the white blood cell count. **Journal Fish Biology**, v. 27, p. 611-619, 1985.

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

RIBEIRO, F.M.; SANTOS, E.O DOS.; ALMEIDA, E.M.; FREITAS, P.V.D.X.; RIBEIRO, T.B.; CARVALHO, T.A. Alimentação e nutrição de pacu (*Piaractus mesopotamicus*): revisão de literatura. **Revista Eletrônica Nutritime**, v. 14, n. 1, p. 4936-4943, 2017.

ROTILI, D.A.; DEVENS, M.A.; DIEMER, O.; LORENZ, E.K.; LAZZARI, R.; BOSCOLO, W.R. Uso de eugenol como anestésico em pacu. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 42, n. 3, p. 288-294, 2012.

SANCHEZ, M. S. dos S.; RODRIGUES, R. A.; NUNES, A. L.; OLIVEIRA, A. M.S.; FANTINI, L. E.; CAMPOS, C. M. de. Efeito do mentol e eugenol sobre as respostas fisiológicas do pacu *Piaractus mesopotamicus*. **Semina. Ciências Agrárias**, v. 35, n. 4, p. 2799-2808, 2014.

SAS – Inst. Inc., Cary, NC, 2015

SCHULTER, E.P.; VIEIRA FILHO, J.E.R. **Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada. Evolução da Piscicultura no Brasil**: diagnóstico e desenvolvimento da cadeia produtiva de tilápia. Ipea, 2017.

SILVA, A.S.E.; LIMA, J.T.A.X.; BLANCO, S.B. Hematologia em peixes (revisão bibliográfica). **Revista Centauro**, v.3, n.1, p.24-32, 2012.

SILVA, R.D.; ROCHA, L.O.; FORTES, B.D.A.; RODRIGUES, C.P.F.; LOBO, J.R.; FALEIRO, M.B.R.; DE PAULA, F.G.; VIEIRA D. Determinação de glicose plasmática em exemplares adultos de Tilápia (*Oreochromis niloticus*) por glicosímetro digital portátil e por método enzimático. In: 6º Congresso de Ensino Pesquisa e Extensão, Goiânia, GO. **Anais...**, p.5914-5919, 2009.

SILVEIRA, U.S.; LOGATO, P.V.R.; PONTES, E.C. Fatores estressantes em peixes. **Revista Eletrônica Nutritime**, v.6, n.4, p.1001-1017, 2009.

RIJNBERK, A.; MOL, J.A. Adrenocortical function. In: KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. (Eds), **Clinical Biochemistry of Domestic Animal**. 5th ed. Academic Press, San Diego. 1997. P. 533-568.

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

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

SMALL, B. C. Efeito da sedação com isoeugenol na dinâmica plasmática de cortisol, glicose e lactato em peixes-gatos *Ictalurus punctatus* expostos a estressores. **Aquaculture**, v.238, p.469-481, 2004.

SOUZA, R.A.R.; CARVALHO, C.V.A.; NUNES, F.F.; SCOPEL, B.R.; GUARIZI, J.D.; TSUZUKI, M.Y. Efeito comparativo de benzocaina, mentol e eugenol como anestésico para juvenis de Robalo Peva. **Boletim do Instituto da pesca**. São Paulo v. 33, n. 3, p. 247-255, 2012.

SOUZA, V. L.; URBINATI, E. C.; MARTINS, M. I. E. G.; SILVA, C. S. Avaliação do Crescimento e do Custo da Alimentação do Pacu (*Piaractus mesopotamicus*) Submetido a Ciclos Alternados de Restrição Alimentar e Realimentação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 32, n. 1, p. 19-28, 2003.

STEWART, M.; WEBSTER, J.R.; SCHAEFER, A.L.; COOK, N.J.; SCOTT, S.L. Infrared thermography as a non-invasive tool to study animal welfare. **Animal Welfare**, South Mimms, v.14, p.319-325, 2005.

TAVARES-DIAS, M.; MORAES, F. R. **Hematologia de peixes teleósteos**. Ed.Eletrônica e Arte Final. Ribeirão Preto-SP., 2004. 144 p.

TAVARES-DIAS, M.; OLIVEIRA, S. R. A review of the blood coagulation system of fish. **Brazilian Journal of Biosciences**, v. 7, p. 205-224, 2009.

THRALL, M.A; WEISER, G.; ALLISON, R. W.; CAMPBELL, T. W. **Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária**. São Paulo: Roca, 2007. 688p.

URBINATI, E. C.; CARNEIRO, P. C. F. Práticas de manejo e estresse dos peixes em piscicultura intensiva. In: CYRINO, J. E. P. et. Al. (Ed.). **Tópicos especiais em piscicultura de água doce intensiva**. São Paulo: TecArt, 2004.

URBINATI, E.C.; GONÇALVES, F.D. Pacu (*Piaractus mesopotamicus*), In: Baldisserotto, B.; Gomes, L.C. (Eds.) **Espécies nativas para piscicultura no Brasil**. UFMS, Santa Maria, 2013, Cap.8, p. 225-246, 2013.

URITU, C. M.; MIHAI, C. T.; STANCIU, G. D.; DODI, G.; STRATULAT, T. A.; LUCA, A.; LEON-CONSTANTIN, M. M.; STEFANESCU, R.; BILD, V.; MELNIC, S.; TAMBA, B. I. Medicinal Plants of the Family Lamiaceae in Pain Therapy: A Review. **Pain Research and Management**, p. 7801543, 2018.

- VENTURA, A.S., CORRÊA FILHO, R.A.C., TEODORO, G.C., LAICE M.L., BARBOSA, P.T.L., STRINGHETTA, G.R., JERÔNIMO, G.T., POVH, J.A. Essential oil of *Ocimum basilicum* and Eugenol as Sedatives for Nile Tilapia. **Journal of Agricultural Studies**, v. 8, p. 657-665, 2020a.
- VENTURA, A.S., JERÔNIMO, G.T., OLIVEIRA, S.N. de., GABRIEL, A.M.A., CARDOSO, C.A.L., TEODORO, G.C., CORRÊA FILHO, R.A.C., POVH, J.A. Natural anesthetics in the transport of Nile tilapia: Hematological and biochemical responses and residual concentration in the fillet. **Aquaculture**, v. 526, p. 1-7, 2020b.
- VENTURA, A.S.; SILVA, T.S.C.; ZANON, R.B.; INOUE, L.A.K.A.; CARDOSO, C.A.L. 2019. Physiological and pharmacokinetic responses in neotropical *Piaractus mesopotamicus* to the essential oil from *Lippia sidoides* (Verbenaceae) as an anesthetic. **International Aquatic Research**, v. 11, p. 1–12, 2019.
- VOSYLIENĖ, M.Z. The effects of heavy metals on haematological indices of fish (Survey). **Acta Zoologica Lituanica**, v. 9, p.76-82, 1999.
- WENDELAAR BONGA, S.E. The stress response in fish. **Physiology Review**, v. 77, n.3, p.591- 625, 1997.
- WILLIAMS, J.H.Jr.; MASOURE, S. H.; LEE, S.S. One-dimensional analysis of thermal nondestructive detection of delamination and inclusion flaws. **British Journal of Non-Destructive Testing**, LeighOn-Sea,1980.
- WOJTASZEK, J.; DZIEWULSKA-SZWAJKOWSKA, D.; ŁOZIŃSKA-GABSKA, M.; ADAMOWICZ, A.; DZUGAJ, A. Hematological effects of high dose of cortisol on the carp (*Cyprinus carpio* L.): Cortisol effect on the carp blood. **General and Comparative Endocrinology**, v. 125, p. 176–183, 2002.
- WOODY, C.A., NELSON, J., RAMSTAD, K. Clove oil as an anaesthetic for adult sockeye salmon: field trials. **Journal Fish Biology**, v. 60, p. 340-347, 2002.