



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

LUCIANA ESQUERDO CERQUEIRA

**AVALIAÇÃO COMPORTAMENTAL E ELETROCARDIOGRÁFICA DE JUVENIS
DE TAMBAQUI *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818) SUBMETIDOS A BANHO
DE IMERSÃO A DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE ÓLEO ESSENCIAL DE
Curcuma longa.**

BELÉM – PARÁ

2025

LUCIANA ESQUERDO CERQUEIRA

**AVALIAÇÃO COMPORTAMENTAL E ELETROCARDIOGRÁFICA DE JUVENIS
DE TAMBQUI *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818) SUBMETIDOS A BANHO
DE IMERSÃO A DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE ÓLEO ESSENCIAL DE
Curcuma longa.**

BELÉM – PARÁ

2025

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) de acordo com ISBD
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Pará
Gerada automaticamente pelo módulo Ficat, mediante os dados fornecidos pelo(a)
autor(a)

E74a ESQUERDO CERQUEIRA, LUCIANA.
AVALIAÇÃO COMPORTAMENTAL E
ELETROCARDIOGRÁFICA DE JUVENIS DE TAMBAQUI
Colossoma macropomum (Cuvier, 1818) SUBMETIDOS A
BANHO DE IMERSÃO A DIFERENTES CONCENTRAÇÕES
DE ÓLEO ESSENCIAL DE Curcuma longa. / LUCIANA
ESQUERDO CERQUEIRA, . — 2025.
52 f.

Orientador(a): Prof. Dr. Moises Hamoy
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Pará,
Instituto de Ciências da Saúde, Programa de Pós-Graduação
em Assistência Farmacêutica , Belém, 2025.

1. Curcuma longa, eletrocardiográfica,
comportamental, Colossoma macropomum, tambaqui.. I.
Título.

CDD 615

FOLHA DE APROVAÇÃO

AVALIAÇÃO COMPORTAMENTAL E ELETROCARDIOGRÁFICA DE JUVENIS DE TAMBAQUI *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818) SUBMETIDOS A BANHO DE IMERSÃO A DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE ÓLEO ESSENCIAL DE *Curcuma longa*.

Defesa de Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, área de concentração: Avaliação biológica de produtos naturais e sintéticos, do Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Pará como requisito para a obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas. Área de concentração: Avaliação biológica de produtos naturais e sintéticos.

Orientador: Prof. Dr. Moisés Hamoy.

Aprovado em:

Conceito:

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Moisés Hamoy (Orientador)

Prof^a. Dr^a Dielly Catrina Favacho Lopes Rego (Examinador Interno)

Prof. Dr. Nilton Akio Muto (Examinador Externo)

BELÉM – PARÁ

2025

RESUMO

O uso de agentes naturais como anestésicos no manejo de peixes visa minimizar o estresse desses animais durante os procedimentos. Este estudo tem como objetivo investigar as características comportamentais, eletrocardiográficas e o mecanismo de ação farmacológica do óleo essencial de *Curcuma longa* (CLEO) em *Colossoma macropomum*. O estudo foi conduzido com juvenis de *Colossoma macropomum* ($18,13 \pm 2,1$ g) ($n = 153$), utilizando concentrações de CLEO de $125 \mu\text{L.L}^{-1}$, $150 \mu\text{L.L}^{-1}$, $175 \mu\text{L.L}^{-1}$, $200 \mu\text{L.L}^{-1}$ e $250 \mu\text{L.L}^{-1}$, analisando o comportamento de indução e recuperação anestésica (Experimento I). Os peixes expostos a diferentes concentrações de CLEO atingiram o estágio de anestesia de forma concentração-dependente. No entanto, observou-se reversibilidade dos efeitos obtidos durante a indução anestésica nos parâmetros comportamentais. O mecanismo de ação foi avaliado após a administração de flumazenil (1 mg/kg i.p.), o que demonstrou maior resistência à perda do reflexo de postura e menor latência para a recuperação. Esses achados sugerem que o mecanismo de ação do CLEO envolve a neurotransmissão inibitória mediada pelo GABA.

Palavras-chave: *Curcuma longa*, eletrocardiográfica, comportamental, *Colossoma macropomum*, tambaqui.

ABSTRACT

The use of natural agents as anesthetics in fish handling aims to minimize animal stress during procedures. This study aims to investigate behavioral and electrocardiographic characteristics and the significance of the pharmacological action of *Curcuma longa* essential oil (CLEO) in *Colossoma macropomum*. The study was continuous with juvenile *Colossoma macropomum* (18.13 ± 2.1 g) ($n = 153$), in CLEO concentrations of $125 \mu\text{L.L}^{-1}$, $150 \mu\text{L.L}^{-1}$, $175 \mu\text{L.L}^{-1}$, $200 \mu\text{L.L}^{-1}$ and $250 \mu\text{L.L}^{-1}$ analyzing the behavior of anesthetic induction and recovery (experiment I). Fish exposed to CLEO concentrations reached the anesthetic stage with deep concentration-dependent effects, however, there was reversibility of the effects obtained during anesthetic induction in behavioral interactions. The mechanism of action was observed after administration of flumazenil 1 mg/kg i.p., which demonstrated greater resistance to loss of postural reflex and shorter latency for recovery. The mechanism of action indicates involvement of GABA inhibitory neurotransmission.

Key words: *Curcuma longa*, electrocardiographic, behavioral, *Colossoma macropomum*, *tambaqui*.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1: Latências médias (segundos) para perda do reflexo postural durante banhos de imersão com diferentes tratamentos de CLEO (A). Recuperação do reflexo postural após contato com diferentes concentrações de CLEO (B). (ANOVA seguida do teste de Tukey; * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ e *** $p < 0.001$). 28
- Figura 2: Registro eletrocardiográfico (ECG) normal do tambaqui, *Colossoma macropomum* com duração de 5 minutos (A), Eletrocardiograma ampliado nos 30 segundos finais do registro (270-300 s) (B); Amplificação dos 5 segundos finais do registro, demonstrando elementos morfográficos, onda P, Complexo QRS e Onda T e elementos analisados: Frequência cardíaca (bpm), Amplitude do complexo QRS (mV), Intervalo P-Q (ms), intervalo R-R (ms), Duração de QRS (ms), intervalo Q-T (ms) (C). 29
- Figura 3: Traçado de registros eletrocardiográfico (ECG), demonstrando atividade cardíaca em juvenis de *Colossoma macropomum* (Esquerda), amplificação do últimos 30 segundos do registro de 5 minutos (270 - 300s) (centro), demonstrando os grafoelementos avaliados no trabalho demonstrando a onda P, o complexo QRS e onda T (amplificação de 5 s) (direita) Atividade cardíaca em juvenis de *Colossoma macropomum*, durante banho de imersão com o veículos com a descrição dos grafoelementos cardíacos (A); Grupos tratados em banho de imersão em diferentes concentrações de CLEO com suas Amplificação e identificação das deflagrações cardíacas: 125 $\mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$ (B), 150 $\mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$ (C), 175 $\mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$ (D), 200 $\mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$ (E) e 225 $\mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$ (F). 30
- Figura 4: Valores médios da frequência cardíaca em batimentos por minuto (bpm) (A), valores de média de amplitude do complexo QRS (mV) (B), Valores médios de intervalos R-R (ms) (C), média do intervalo P-Q (ms) (D), duração do complexo QRS (ms) (E) e intervalo QT (ms) (F), durante a exposição ao CLEO nas concentrações de 125 $\mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$, 150 $\mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$, 175 $\mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$, 200 $\mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$ e 225 $\mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$ (ANOVA seguida do teste de Tukey; * $P < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$; $n=9$). 32
- Figura 5: Atividade cardíaca em juvenis de *Colossoma macropomum*, durante a recuperação após banho de imersão com diferentes concentrações de CLEO (esquerdo). Amplificação do registro nos últimos 30 segundos (270-300 34

- s) , para identificação das deflagrações cardíacas (centro), no período de recuperação após banho de imersão com as seguintes concentrações de CLEO (ampliação de 5 s) (direita) : 125 $\mu\text{L. L}^{-1}$ (A), 150 $\mu\text{L. L}^{-1}$ (B), 175 $\mu\text{L. L}^{-1}$ (C) , 200 $\mu\text{L. L}^{-1}$ (D) e 225 $\mu\text{L. L}^{-1}$ (E).
- Figura 6 Valores médios dos parâmetros cardíacos durante a recuperação ao tratamento com diferentes concentrações de CLEO em banho de imersão a 125 $\mu\text{L. L}^{-1}$, 150 $\mu\text{L. L}^{-1}$, 175 $\mu\text{L. L}^{-1}$, 200 $\mu\text{L. L}^{-1}$ e 225 $\mu\text{L. L}^{-1}$ Valores de médias da frequência cardíaca (BPM) (A), Amplitude do QRS (*mV*) (B),Intervalo R-R (ms) (C), intervalos P-Q (ms) (D); duração do complexo QRS (ms) (E) e intervalo QT (ms) (F). (ANOVA seguida do teste de Tukey; * $P<0.05$, ** $p<0.01$, *** $p<0.001$; n=9). 35
- Figura 7 Gráfico demonstrando os Valores médios de latência em segundos para perda do reflexo de postura após aplicação de flumazenil 1mg/kg i.p. durante o banho de imersão nas concentrações de 125 $\mu\text{L. L}^{-1}$, 150 $\mu\text{L. L}^{-1}$, 175 $\mu\text{L. L}^{-1}$, 200 $\mu\text{L. L}^{-1}$ 225 $\mu\text{L. L}^{-1}$ de CLEO (A); Valores de média de latência para a recuperação do reflexo de postura após contato com CLEO (B). (ANOVA seguida do teste de Tukey; *** $p<0.001$; n=9). 37

LISTA DE TABELAS

Tabela1:	Composição o óleo essencial de Curcuma longa (CLEO).	27
----------	--	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CLEO	Óleo essencial de <i>Curcuma longa</i>
ECG	Eletrocardiograma
IBGE	Instituto Brasileiro de geografia e Estatística
OE	Óleo essencial
FC	Frequência cardíaca
VSV	Volume sistólico ventricular

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	15
2.1. Farmacologia de Produtos naturais	15
2.2. <i>Curcuma longa</i> : composição e propriedades.....	15
2.3. <i>Colossoma macropomum</i> : Biologia e manejo.....	16
2.4. Anestesia em peixes.....	17
2.5 Aplicação do ECG em Estudos de Anestesia.....	19
3. JUSTIFICATIVA.....	21
4. OBJETIVOS.....	22
4.1. Geral.....	22
4.2. Específicos.....	22
5. MATERIAIS E MÉTODOS.....	23
5.1. Propriedades organolépticas e Análise cromatográfica.....	23
5.2. Delineamento experimental.....	23
5.2.1. Animais experimentais.....	23
5.2.2 Experimento com óleo essencial de <i>Curcuma longa</i> (CLEO).....	24
5.2.3 Experimento 1- Análise do comportamento característicos de indução e recuperação anestésica.....	24
5.2.4 Experimento 2- Análise do Eletrocardiograma (ECG).....	24
5.2.5 Gravação e Análise dos Registros.....	25
5.2.6 Experimento 3 - Avaliação do mecanismo subjacentes aos efeitos observados durante o tratamento com CLEO.....	25
5.3 Eutanásia.....	25
5.4 Análise estatística.....	26
5.5 Conformidades éticas.....	26

6. RESULTADOS.....	27
6.1 Perfil cromatográfico	27
6.2 Análise comportamental (Reflexo postural).....	27
6.3 Eletrocardiografia durante a indução e recuperação anestésicas	28
6.4 Avaliação GABAérgica com flumazenil.....	36
7. DISCUSSÃO.....	38
7. CONCLUSÃO.....	41
REFERÊNCIAS.....	42

1. INTRODUÇÃO

As atividades desenvolvidas na aquicultura demandam que os peixes enfrentem diversos potenciais fatores estressores. Durante procedimentos de manejo e transporte, podem ocorrer ferimentos que servem como porta de entrada para microrganismos (RIBEIRO et al., 2016; BARBAS et al., 2017; PRIMADONA et al., 2017). Além disso, um ambiente de cultivo em tanques com alta densidade leva a um aumento no nível de estresse dos animais (ZAHN et al., 2012), gerando efeitos significativos na fisiologia e sobrevivência dos peixes (HARMON, 2009).

Estes estresses impactam diretamente no aumento da taxa de mortalidade dos peixes (DELBON & PAIVA, 2012; ABDEL-AZIZ, 2013), podendo causar perdas significativas de recursos e de produtividade nesta cadeia de produção (DAVIS, 2010; BECKER et al., 2012; HOHLENWERGER et al., 2017; TEIXEIRA et al., 2018). Diante disso, a utilização de anestésicos tornou-se uma prática essencial para garantir o sucesso da aquicultura, promovendo assim o bem-estar dos animais durante o pré e pós manejo (BIANCHINI et al., 2017; HOSEINI et al., 2019).

Entre os anestésicos utilizados em peixes, aqueles de origem natural são amplamente estudados, pois apresentam eficácia no transporte, mesmo em baixas doses (SUWANDI, NUGRAHA & ZULFAMY, 2013; AYDIN et al., 2015). Além disso, esses anestésicos aumentam a taxa de sobrevivência após a administração (HASAN et al., 2016), apresentam baixas taxas de resíduos teciduais nos animais e reduzem a quantidade de poluentes despejados no meio ambiente (RAMANAYAKA & ATAPATTU, 2006; REZENDE, PASCOAL, VIANNA & LANNA, 2017).

Dentre os produtos naturais, destacam-se os óleos essenciais com potencial efeito anestésico em peixes, como o óleo essencial de *Curcuma longa*. Segundo Schramm et al. (2013), alguns constituintes desse gênero apresentam propriedades farmacológicas depressoras do Sistema Nervoso Central (SNC), possivelmente ligadas ao sistema gabaérgico. A *Curcuma longa* é conhecida por suas diversas propriedades farmacológicas e terapêuticas (AGGARWAL et al., 2009), incluindo atividades antioxidante, anticancerígena, antiaterosclerótica, antidiabética, anti-inflamatória, imunomoduladora e sedativa (YU, KONG & CHEN, 2002; VIJAYASTELTAR et al., 2011; PRIYA et al., 2012; PARVEEN et al., 2013).

O tambaqui (*Colossoma macropomum*) destaca-se como a espécie nativa de peixe mais cultivada no Brasil e em diversas nações da América do Sul e Central, conforme relatado pela FAO (2014) e pelo IBGE (2020). Pertencente à família *Serrasalminidae*, esta espécie amazônica apresenta excelentes taxas de crescimento e eficiência na conversão alimentar, conforme já investigado por Merola e Cantelmo (1987). O crescente interesse na aquicultura do tambaqui deve-se à qualidade da carne, ao rápido crescimento e à alta eficiência alimentar (GUIMARÃES et al., 2014). Além disso, Barbas et al. (2016a, 2016b) sugerem que o tambaqui apresenta elevado potencial como modelo animal para estudos com anestésicos em espécies tropicais de peixes de água doce.

Quanto ao impacto econômico associado ao seu cultivo, a Associação Brasileira de Piscicultura (2024) destaca que o Brasil produziu, em 2023, aproximadamente 887.029 toneladas de peixes nativos, sendo também o tambaqui a segunda espécie em volume de exportação, com um crescimento de 809% em relação ao ano anterior (PEIXE BR, 2024). Dessa forma, a crescente lucratividade dessa cadeia produtiva tem impulsionado o interesse na busca por estratégias de cultivo mais eficientes, que aumentem tanto a produtividade quanto a saúde e o bem-estar dos peixes (GUILHERME et al., 2022; LUZ et al., 2021; NAKAYAMA et al., 2022; VIEIRA et al., 2022).

A preocupação com o bem-estar dos peixes é extremamente relevante nos estudos sobre anestesia. Nesse contexto, uma das ferramentas utilizadas para garantir que não haja comprometimento das funções vitais dos animais é o eletrocardiograma (ECG). Estudos de Arnaout et al. (2007) e Koopman et al. (2021) demonstraram a similaridade das formas de onda do ECG do peixe-zebra adulto e dos humanos, incluindo ondas P, complexos QRS e ondas T. Além disso, em estudos com o peixe-zebra (GENGE et al., 2016; LE et al., 2022), foi possível realizar a triagem de danos causados por medicamentos, por meio da avaliação do prolongamento do intervalo QT induzido por fármacos.

Desta forma, este artigo apresenta um estudo de avaliação comportamental de tambaquis (*Colossoma macropomum*) submetidos a banho de imersão em diferentes concentrações de óleo essencial de *Curcuma longa*. Além disso, são analisados os

dados eletrocardiográficos desses animais durante o uso desse óleo, a fim de garantir sua segurança na indução e recuperação anestésicas.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Farmacologia de Produtos naturais

A natureza, de um modo geral, é a responsável pela produção da maioria das substâncias orgânicas conhecidas, entretanto, o reino vegetal é responsável pela maior parcela da diversidade química conhecida e registrada na literatura. Um metabólito é um produto natural que é resultado direto de milhões de anos de evolução, atingindo um refinamento elevado de formas de proteção e resistência às intempéries do clima, poluição e predadores (MONTANARI & BOLZANI, 2001).

Um produto natural, composto químico ou substância produzida por um organismo vivo encontrado na natureza, pode ser extraído de tecidos de plantas terrestres ou microrganismos, que geralmente possui uma atividade farmacológica ou biológica para uso na descoberta de compostos bioativos (LAHLOU, 2013).

Podem ser empregados *in natura* (por exemplo, como infusões de plantas medicinais), em preparações simples (por exemplo, como tinturas e extratos), em medicamentos fitoterápicos (por exemplo, vegetais ou frações destes quimicamente caracterizados e padronizados, incorporados em formas farmacêuticas), como óleos essenciais ou substâncias puras (como por exemplo a penicilina que tem origem fúngica) (SIMÕES et al., 2017).

2.2. Cúrcuma longa: composição e propriedades

O termo árabe "*Kourkoum*", que significa açafrão, é de onde vem a palavra latina "Curcuma". Esta espécie vegetal prospera em clima quente e úmido, pois precisa de muita água para seu crescimento (IDREESS et al., 2023). A cúrcuma (*Curcuma longa* L.) pertence à família de Zingiberaceae, gênero Curcuma, que se caracteriza como uma cultura de colheita abundante e floração perene (BORGES et al., 2019; GIRME et al., 2021).

Os rizomas moídos da cúrcuma têm importantes valores medicinais devido ao seu conteúdo de curcuminóides, flavonóides, ácidos fenólicos e óleo essencial, o que explica seu reconhecimento mundial como um alimento funcional (CHARUN, 2021). Pigmentos curcuminóides e óleo essencial de cúrcuma constituem cerca de 30–45%

e 15–20% do total de metabólitos secundários produzidos pela planta, respectivamente (KUTTI GOUNDER & LINGAMALLU, 2012; BAMBIRRA et al., 2002).

Os curcuminóides (curcumina, desmetoxicurcumina, e bisdemetoxicurcumina) são derivados polifenólicos não tóxicos da curcumina que exercem uma ampla gama de atividades biológicas (ITOKAWA et al., 2008). Vários estudos fitoquímicos sobre óleos de Cúrcuma levaram à identificação de sesquiterpenóides e monoterpenóides como os principais componentes (DOSOKY & SETZER, 2018).

O óleo essencial (OE) de cúrcuma possui uma ampla variedade de propriedades farmacológicas, incluindo anti-inflamatória, anticancerígena, antiproliferativa, sedativa, hipocolesterolêmica, hipotensora, antioxidante, antimicrobiana, antiviral, inseticida, antitrombótica e atividades inibitórias da ciclooxigenase-1 (COX-1) (MAU et al., 2003; ANGEL et al., 2014; SACCHETTI et al., 2005; RAUT & KARUPPAYIL, 2014).

2.3. *Colossoma macropomum*: Biologia e manejo

O tambaqui (*Colossoma macropomum*) é uma espécie naturalmente encontrada nas bacias dos rios Amazonas e Orinoco. É uma espécie robusta e de rápido crescimento que está consolidada na piscicultura comercial e cultivada em vários países da América do Sul e da Ásia (BOAVENTURA et al., 2021; SANTOS et al., 2021).

Anatomicamente, o tambaqui apresenta estrutura corpórea romboidal, com coloração amarelada (metade superior) e negra (metade inferior) do corpo, mas pode variar de acordo da cor da água em que habita. Quando criados em cativeiros, demonstram boa adaptação, com alta taxa de conversão protéica, propiciando sucesso econômico (VAL E HONCZARYK, 1995; VAL e ALMEIDA – VAL, 1995; EMATER-RO, 2006).

No Brasil, é cultivado nas regiões Norte e Nordeste, onde a água encontra-se em altas temperaturas (BALDISSEROTTO & GOMES, 2010) e, ainda de acordo com estudos de Farias Lima et al. (2019), a produção de tambaqui tem prosperado mesmo em baixos níveis de tecnologia, principalmente em sistemas extensivos e semi-intensivos.

Nesta perspectiva, investir na produção de tambaqui tem surtido efeito no aumento da produtividade, tanto que de cada cinco tambaquis consumidos, quatro são provenientes de cativeiros (INOUE et al., 2011). Embora alguns fatores estressantes alterem as condições de cativeiro como mudança na química da água, altas densidades de estocagem e também o manuseio excessivo (WENDEMEYER, 1996; WENDELAAR BONGA, 1997), o tambaqui apresenta bons índices zootécnicos de crescimento com o fornecimento de rações apropriadas.

Seu manejo envolve várias etapas como captura, confinamento, manuseio, adensamento e o transporte propriamente dito, e se não conduzido de forma adequada pode induzir respostas de estresse, acarretando em desempenho produtivo negativo, resposta imune fragilizada, estando exposto à patógenos (BRANDÃO et al., 2006; GOMES et al., 2006; TAVARES-DIAS & MARTINS, 2017; VALLADÃO et al., 2018).

Assim, para minimizar o efeito do estresse oriundo das práticas de manejo, por meio da atenuação da ativação do eixo hipófise-hipotálamo-inter-renal (HHI), o uso de anestésicos é uma das técnicas mais empregadas (PURBOSARI et al., 2019; AYDIN & BARBAS, 2020).

2.4. Anestesia em peixes

As espécies de peixes têm sido cada vez mais exploradas não apenas em práticas comerciais como a aquicultura (NAYLOR et al., 2021) e o comércio de peixes ornamentais (EVERS et al., 2019), mas também como organismos modelo em pesquisa (MOCHO E VON KROGH, 2022). Acompanhando estes objetivos, uma conscientização crescente tem sido dada ao bem-estar dos peixes (BROWMAN et al., 2019; SLOMAN et al., 2019). Na aquicultura, os peixes são expostos a uma variedade de estressores, principalmente durante o transporte (JONES et al., 2021), que podem ter impactos significativos no estado funcional de indivíduos e afetar os resultados econômicos (TONI et al., 2019).

Diferentes estratégias foram propostas, prevenindo estressores variados, como o uso de agentes anestésicos que está despontando de maneira promissora (SCHROEDER et al., 2021). O metanossulfonato de tricaína (MS- 222), por exemplo, é um anestésico local sintético e tem sido o agente anestésico de imersão mais comumente utilizado em peixes (CARTER et al., 2011; TOPIC POPOVIC et al., 2012).

Os anestésicos atenuam os efeitos estressores desencadeados pelo transporte, pois se espera que peixes sob sedação, ou seja, expostos a concentrações seguras de um determinado anestésico, mantenham a postura normal e o movimento opercular ativo, com menor instabilidade hemodinâmica (ROSS E ROSS, 2008). A sedação segura reduz o impacto e a duração da resposta fisiológica ao estresse (DAVIS E GRIFFIN, 2004) e, portanto, baixas taxas de mortalidade.

Agentes anestésicos sintéticos, apesar de induzirem rápida resposta e recuperação (COLLYMORE et al., 2014), seus efeitos colaterais (CARTER et al., 2011) associados às respostas específicas da espécie (READMAN et al., 2017), levaram à busca por anestésicos ecologicamente corretos, como óleos essenciais de plantas e/ou seus compostos bioativos isolados (AYDIN & BARBAS, 2020; HOSEINI et al., 2019; DE SOUZA et al., 2019; TSUCHIYA, 2017).

Seguindo, portanto, este raciocínio, novos extratos vegetais foram propostos como anestésicos e relaxantes musculares para facilitar o manuseio de peixes (BARBAS et al., 2017a; HOSEINI et al., 2019; DE SOUZA et al., 2019; VILHENA et al., 2019) como alternativas aos medicamentos sintéticos, por exemplo, MS-222 ou propofol, que geralmente são produtos pouco disponíveis, além de onerosos e geradores de resíduos (POPOVIC et al., 2012; VALENTIM et al., 2016).

A diminuição na geração de resíduos contribui diretamente para a garantia da qualidade da carne oferecida aos consumidores, garante-se que os peixes estejam saudáveis e livres dos resíduos de substâncias sintéticas, portanto o uso de anestésicos naturais se torna uma alternativa sustentável e totalmente aplicável na piscicultura (TAHERI MIRGHAED et al., 2018b).

E, assim, os produtos extraídos de plantas são avaliados quanto aos seus efeitos sedoanalgésicos em peixes, estudos enfatizam que essas propriedades podem estar relacionadas à atividade biológica de seus principais compostos isolados e/ou sinergia entre estes compostos, por exemplo, em extratos vegetais e óleos essenciais (AYDIN & BARBAS, 2020; BATISTA et al., 2018; BRANDÃO et al., 2021; BALDISSEROTO et al., 2018; SPANGHERO et al., 2019).

Entre os óleos naturais, o óleo de cravo é o mais comumente empregado como anestésico (MOCHO & VON KROGH, 2022), demonstrou ser seguro, acessível e eficaz em uma variedade de espécies de peixes (JAVAHERY et al., 2012). As propriedades anestésicas foram descritas para outros compostos pertencentes à

família dos monoterpenos, devido às suas similaridades químicas com os anestésicos sintéticos (TSUCHIYA, 2017). Os monoterpenos são o tipo mais frequente de metabólito secundário vegetal composto de estruturas acíclicas, monocíclicas e bicíclicas (ZIELINSKA- BLAJET & FEDER- KUBIS, 2020).

Os óleos essenciais podem afetar vários parâmetros fisiológicos e bioquímicos em peixes. Isto dependerá de fatores, tais quais: concentração, tempo de exposição, espécies de peixes, fatores ambientais e biológicos (TONI et al., 2014). E ainda segundo Toni et al. (2014), anestésicos naturais devem ser examinados quanto aos seus efeitos fisiológicos e bioquímicos em diferentes espécies, isto pode determinar os limites seguros de seu uso.

2.5 Aplicação do ECG em Estudos de Anestesia

A anatomo-fisiologia do coração dos peixes revela que o volume do átrio é igual ou maior que o ventrículo, e a contração atrial (ou seja, enchimento monofásico ou ativo) parece ser o determinante primário do enchimento ventricular durante a diástole (COTTER, HAN, EVERSON, & RODNICK, 2008; FORSTER & FARRELL, 1994).

Os peixes possuem câmaras contráteis que são seguidas por um trato de saída (OFT) que é composto principalmente de um bulbo arterioso elástico, com a morfologia de todas as câmaras se combinando para formar um coração que bombeia volumes menores em pressões mais altas (TOTA & GATTUSO, 1996).

Os peixes alteram seu débito cardíaco (DC) em resposta a mudanças ambientais ou alterações metabólicas. Assim, a frequência cardíaca (FC), especificamente, está aumentada em resposta tanto ao aumento das temperaturas ambientais quanto à digestão, enquanto o exercício e a hipóxia geralmente envolvem mudanças tanto na FC quanto no volume sistólico ventricular (VSV) (CLAIREAUX et al., 2005; FARRELL & SMITH, 2017; GAMPERL & DRIEDZIC, 2009; GAMPERL & FARRELL, 2004; GAMPERL & SHIELS, 2014).

O eletrocardiograma (ECG) é um exame simples, barato e não invasivo. Permite uma ideia da condição cardíaca do indivíduo e pode eventualmente identificar situações de risco de morte súbita. Assim, o achado de um ECG dentro dos limites da normalidade garante que a função ventricular deva estar normal ou próxima disto (SAMESIM et al., 2022).

Um dos primeiros modelos experimentais em anestesia foi testado com o peixe-zebra que é um modelo crucial para estudos de desenvolvimento cardíaco, regeneração e triagem fisiológica (MA et al., 2019). A similaridade das características da forma de onda do eletrocardiograma (ECG) (ondas P, complexos QRS e ondas T) do peixe-zebra adulto e dos humanos foi notavelmente evidenciada em estudos anteriores (ARNAOUT et al., 2007).

E ainda segundo Le et al. (2022), o peixe-zebra é tido como um modelo alternativo para triagem de toxicidade farmacêutica, como por meio da avaliação do prolongamento do intervalo QT induzido por medicamentos.

Portanto, análise usando o ECG é eficaz para encontrar anormalidades intrabatemento do coração, como prolongamento do intervalo QT, e alguns estudos usando peixes grandes, como peixes-escorpião ou trutas arco-íris, foram conduzidos usando eletrodos de ECG (CAMPBELL, TAYLOR, EGGINTON, 2004; RANDALL, 1962).

Deste modo, os peixes tornaram-se um modelo ideal para estudos cardiovasculares devido à sua semelhança aos humanos em morfologia, fisiologia e genética (ARNAOUT et al., 2007; KOOPMAN et al., 2021). Apesar de ter apenas duas câmaras discerníveis no coração em comparação com quatro nos corações humanos, o coração de muitos peixes possui uma estrutura contrátil similar com um sistema de condução elétrica semelhante (GENGE et al., 2016; NEMTSAS et al., 2010).

3. JUSTIFICATIVA

A utilização de anestésicos naturais que são de fácil obtenção e disponibilidade, por serem facilmente encontrados na natureza – como o óleo essencial de *Curcuma longa* –, pode ser vantajosa pela possibilidade de apresentarem pouca ou nenhuma toxicidade para animais e humanos, assim como também é um produto que, em sua extração, não prejudica o meio ambiente. Tornando-se, dessa maneira, um possível anestésico que não gerará desconforto e efeitos indesejáveis às cobaias, aos manipuladores e aos consumidores, sendo eles atóxicos, eficazes e seguros, além de serem produtos de baixo custo.

Os produtos naturais são importantes porque consumi-los de forma equilibrada auxilia no funcionamento do organismo humano. Acredita-se que sejam menos agressivos que os sintéticos, portanto, a ideia é usar produtos de origem orgânica, como plantas. O peixe experimental é comumente encontrado na nossa região, sendo consumido por muitos, logo observa-se a relevância de se obter um anestésico eficaz e seguro, através da quantidade da aplicação em doses adequadas, com o intuito de redução do estresse e mortalidade dos juvenis de tambaquis durante o manejo, além de garantir a saúde do animal e de seu consumidor.

Para a verificação da qualidade do processo anestésico utilizando o óleo de cúrcuma, deverá ser realizado o registro eletrocardiográfico para a verificação da função cardíaca do peixe, além da avaliação comportamental desses tambaquis, para examinar o nível de estresse ou plausíveis convulsões e desconforto dos mesmos, pois alguns efeitos adversos podem ocorrer durante esse processo, como até mesmo alterações fisiológicas do animal.

Sendo assim, há uma grande importância na inserção de anestésicos que sejam consideravelmente menos agressivos na piscicultura, facilitando o cultivo dessa espécie e possibilitando uma maior produção através das análises comportamentais e eletrocardiográficas, que ajudará a responder aos efeitos desses animais submetidos ao experimento para suas possíveis recomendações.

4. OBJETIVOS

4.1. Geral

- Determinar a eficácia do óleo essencial de *Curcuma longa* como anestésico em juvenis de tambaqui através do banho de imersão.

4.2. Específicos

- Avaliar a dose resposta mais eficaz de diferentes concentrações de óleo de *Curcuma longa* capaz de promover a indução anestésica nos juvenis de tambaqui indicando uma janela segura para anestesia;
- Analisar as alterações comportamentais provocadas durante a indução anestésica com o óleo de cúrcuma em tambaqui;
- Avaliar o ECG dos juvenis de tambaqui submetidos a banhos de imersão em diferentes concentrações de *Curcuma longa*.

5. MATERIAIS E MÉTODOS

5.1. Propriedades organolépticas e Análise cromatográfica

Óleo essencial de *Curcuma longa* (CLEO) foi adquirido do Laboratório Laszlo Aromatherapy (Brasil, CNPJ: 07.997.093/0001-10). Segundo dados fitoquímicos cedidos pelo Laboratório Laszlo Aromatherapy, do rizoma da planta foi extraído o óleo utilizando as técnicas de destilação e arraste a vapor. Foi empregado como método de análise do óleo a Cromatografia Gasosa de Alta Eficiência em Cromatógrafo Gasoso AGILENT 7820A nas seguintes condições: Coluna: HP-5 30mx0.32mm x 0,25 µm (AGILENT). Temp.: Coluna: 70°C (0 min), 3°C/min a 250°C. Injetor: 250°C Divisão: 1/50. Detector FID: 260°C. vol. injeção: 1 µl (1% em clorofórmio).

5.2. Delineamento experimental

5.2.1. Animais experimentais

Os animais utilizados (n=153) da espécie tambaqui, *Colossoma macropomum*, (machos e fêmeas), foram estocados em aquários no Biotério de Experimentação do Laboratório de Farmacologia e Toxicologia de Produtos Naturais da Universidade Federal do Pará (ICB/ UFPA) em ambiente com temperatura controlada (25 a 27 °C) e fotoperíodo 12 h C: 12 h E:. A alimentação foi realizada duas vezes ao dia com ração comercial (32% de proteína) até à saciedade. Concomitantemente à sifonagem para a retirada de alimento não consumido e fezes, a água foi parcialmente renovada (aproximadamente 30% do volume dos tanques) com água filtrada e de mesma origem. Durante a aclimação (10 dias), as variáveis de qualidade da água, como temperatura da água (°C) (26.3°C); potencial hidrogeniônico (pH) (PH=7.6), foram monitorados.

5.2.2 Experimento com óleo essencial de *Curcuma longa* (CLEO)

Os Juvenis de tambaqui ($18,13 \pm 2,1\text{g}$) foram distribuídos aleatoriamente nos seguintes tratamentos : a) Controle; b) grupo veículo (peixes submetidos ao banho de imersão 3 ml de álcool 70% diluído em 1litro de água de aquário); c) Peixes tratados com CLEO $125 \mu\text{L.L}^{-1}$; d) $150 \mu\text{L.L}^{-1}$; e) $175 \mu\text{L.L}^{-1}$; f) $200 \mu\text{L.L}^{-1}$ e g) $225 \mu\text{L.L}^{-1}$.Todos os peixes foram submetidos a indução anestésica mantendo o contato por um período de 5 minutos e para a recuperação anestésica foi observado durante 5 minutos em água sem CLEO. Para cada registro foram utilizados um $n = 9$ /tratamento (banho de imersão com CLEO e recuperação após banho de imersão), em um total de 153 juvenis de *Colossoma macropomum*.

5.2.3 Experimento 1- Análise do comportamento característicos de indução e recuperação anestésica

Considerando o tempo de contato para os seguintes tratamentos com CLEO: a) $125 \mu\text{L.L}^{-1}$, b) $150 \mu\text{L.L}^{-1}$, c) $175 \mu\text{L.L}^{-1}$, d) $200 \mu\text{L.L}^{-1}$ e $225 \mu\text{L.L}^{-1}$ ($n=9$ /tratamento), foi avaliada a latência para o comportamento de perda de reflexo de postura que se caracteriza por decúbito lateral. Posteriormente os animais foram retirados do contato com CLEO onde foi avaliada a latência para recuperação do reflexo de postura.

5.2.4 Experimento 2- Análise do Eletrocardiograma (ECG)

Para a análise e monitoramento da função cardíaca os grupos foram divididos: a) Grupo controle; b) Grupo veículo; c) Grupo tratado com CLEO $125 \mu\text{L.L}^{-1}$; d) $150 \mu\text{L.L}^{-1}$; e) $175 \mu\text{L.L}^{-1}$; f) $200 \mu\text{L.L}^{-1}$ e g) $225 \mu\text{L.L}^{-1}$ (Total= 63 animais). Para isso, foram confeccionados eletrodos em prata 925 com diâmetro de 0.3 mm e comprimento de 10 mm, posteriormente foram isolados com isolante líquido, foram confeccionados de forma não-conjugada. A posição utilizada para fixação do eletrodo de referência obedeceu a indicação do vetor cardíaco (polo negativo na base coração e polo positivo no ápice do coração). O eletrodo de referência foi fixado na porção ventral da abertura opercular esquerda 0.2 mm após o término da cavidade opercular.

O eletrodo de registro, foi inserido 2.0 mm da abertura opercular direita. O eletrodo captou o sinal nas proximidades da derivação D1. Após isso, os eletrodos foram conectados a um amplificador de alta impedância (Grass Technologies, Modelo

P511), para realização dos registros eletrocardiográficos. Possibilitando a análise da frequência cardíaca (bpm), a amplitude do complexo QRS (*mV*), duração do complexo QRS (ms), intervalos R-R (ms), P-Q (ms) e Q-T (ms).

5.2.5 Gravação e Análise dos Registros

Os eletrodos foram conectados a um sistema de aquisição de dados digital através de um amplificador diferencial de alta impedância de entrada (Grass Technologies, Modelo P511), ajustado com filtragem de 0.3 e 300 Hz, com amplificação de 2000X e monitorados com um osciloscópio (ProteK, Modelo 6510).

Os registros foram continuamente digitalizados a uma taxa de 1 KHz em um computador equipado com uma placa de aquisição de dados (National Instruments, Austin, TX), e foram armazenados em disco rígido e posteriormente processados através de um software especializado (LabVIEW express).

As análises dos sinais foram adquiridas com auxílio de uma ferramenta construída na linguagem de programação Python. As bibliotecas Numpy e Scipy foram usadas para o processamento matemático e a biblioteca Matplotlib foi utilizada para a elaboração dos gráficos. A interface gráfica foi desenvolvida pelo uso da biblioteca PyQt4 (HAMOY et al., 2023).

5.2.6 Experimento 3 - Avaliação do mecanismo subjacentes aos efeitos observados durante o tratamento com CLEO

Para este experimento os grupos foram tratados previamente com flumazenil 0.1 mg/mL na dose de 1mg/kg por via i.p. quinze minutos antes do tratamento com CLEO nas concentrações de 125 $\mu\text{L.L}^{-1}$, 150 $\mu\text{L.L}^{-1}$, 175 $\mu\text{L.L}^{-1}$, 200 $\mu\text{L.L}^{-1}$ e 225 $\mu\text{L.L}^{-1}$ até que os peixes apresentassem perda do reflexo de postura e posteriormente foi observada a latência para a recuperação dos animais. O flumazenil foi utilizado para avaliar a atividade GABAérgica alostérico do CLEO.

5.3 Eutanásia

No dia seguinte aos experimentos, os animais foram pesados em uma balança eletrônica e posteriormente submetidos à eutanásia por superdosagem, foi usada uma dose de tricafina de 500 ppm até a total perda de reflexo e morte. O material foi

descartado pela empresa de serviços de descarte de materiais biológicos contratada pela Universidade Federal do Pará.

5.4 Análise estatística

Após verificação do atendimento aos pressupostos de normalidade e homogeneidade de variâncias, através dos testes Kolmogorov-Sminov e Levene, respectivamente, as comparações dos valores médios de potência foram feitas através de ANOVA de uma via, seguida de teste de Tukey. O software GraphPad Prism® 8 foi utilizado para as análises e um valor de $*p < 0.05$, $** p < 0.01$ e $***p < 0.001$ foram considerados estatisticamente significativo em todos os casos.

5.5 Conformidades éticas

O estudo foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa com Animais de Experimentação da UFPA (CEPAE-UFPA), protocolado no Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) sob a numeração 9261280624, após aval foi iniciado o experimento pelo autor desta dissertação e pelo responsável pelo Laboratório de Farmacologia e Toxicologia de Produtos Naturais. Portanto, esta pesquisa seguiu os preceitos legais necessários, embasando-se juridicamente e eticamente nos regimentos estabelecidos pela legislação nacional para utilização e criação de animais para experimentação e pelos princípios éticos do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA).

6. RESULTADOS

6.1 Perfil cromatográfico

Quanto aos resultados do cromatograma, exibidos da Tabela 1 abaixo, houve predominância de três terpenos neste óleo essencial, Ar-turmerona (32.5 %), como componente majoritário; Curcumeno (13%) e Curlona (8.7%).

Tabela 1. Composição do óleo essencial de *Curcuma longa* (CLEO).

Retention time order	Identification	%
1	Careno	0.4
2	1,8-Cineol	0.4
3	Farneseno	7.2
4	α -curcumeno	5.7
5	β -curcumeno	13
6	α -bergamoteno	2.6
7	β -bisaboleno	2.7
8	Sesquifelandreno	3.2
9	Curlona	8.7
10	ar-turmerona	32.5
11	Turmerol	1.5
12	Atlantona	1.0

Fonte: Laboratório Laszlo Aromatherapy

6.2 Análise comportamental (Reflexo postural)

A análise comportamental mostrou que CLEO, causou perda do reflexo postural nos peixes, e quanto maior a dose, menor a latência para o surgimento da perda de reflexo de postura. Peixes tratados com $125 \mu\text{L.L}^{-1}$ apresentaram média de perda de reflexo de postura em 169.0 ± 12.00 s que foi superior aos demais grupos. O grupo tratado com $150 \mu\text{L.L}^{-1}$ apresentou média de latência 147.6 ± 11.90 s, $175 \mu\text{L.L}^{-1}$ (129.1 ± 11.99 s), $200 \mu\text{L.L}^{-1}$ (101.2 ± 7.48 s) e $225 \mu\text{L.L}^{-1}$ (90.56 ± 10.25 s) foram diferentes (Figura 1 A).

Já a recuperação do reflexo postural no grupo tratado com $125 \mu\text{L.L}^{-1}$ de CLEO ocorreu em 123.9 ± 13.30 s, foi menor que os demais grupos: $150 \mu\text{L.L}^{-1}$ (168.9 ± 11.67 s), $175 \mu\text{L.L}^{-1}$ (206 ± 14.27 s), $200 \mu\text{L.L}^{-1}$ (245 ± 13.04 s) e $225 \mu\text{L.L}^{-1}$ (275.4 ± 16.98 s). Todos os grupos apresentaram tempo de recuperação dependente da concentração utilizada, desta forma concentrações maiores tiveram maior tempo para a recuperação do reflexo de postura, demonstrando reversibilidade do efeito de forma mais lenta para os grupos que receberam maiores concentrações (Figura 1 B).

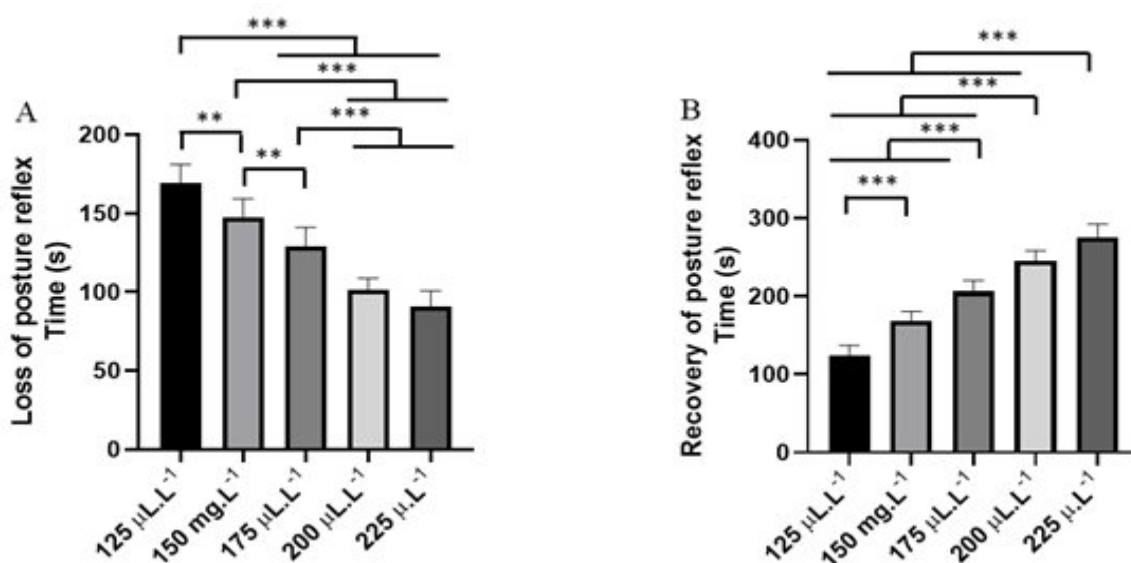


Figura 1. Latências médias (segundos) para perda do reflexo postural durante banhos de imersão com diferentes tratamentos de CLEO (A). Recuperação do reflexo postural após contato com diferentes concentrações de CLEO (B). (ANOVA seguida do teste de Tukey; ; * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ e *** $p < 0.001$)

6.3 Eletrocardiografia durante a indução e recuperação anestésicas

Quanto aos resultados eletrocardiográficos, o ECG normal do tambaqui apresentou ritmo sinusal e média de frequência de 95.22 ± 7.775 bpm, identificando-se a onda P, o complexo QRS e a onda T (Figura 2 A, B e C). O intervalo entre as deflagrações R-R (ms), os intervalos P-Q (ms), e Q-T (ms) se mantiveram regulares em consideração os parâmetros cardíacos de normalidade, desta forma, foi medida a interferência de tratamentos em doses crescentes de CLEO. Para o grupo controle o ritmo cardíaco foi sinusal, durante o registro de 5 minutos (Figura 2).

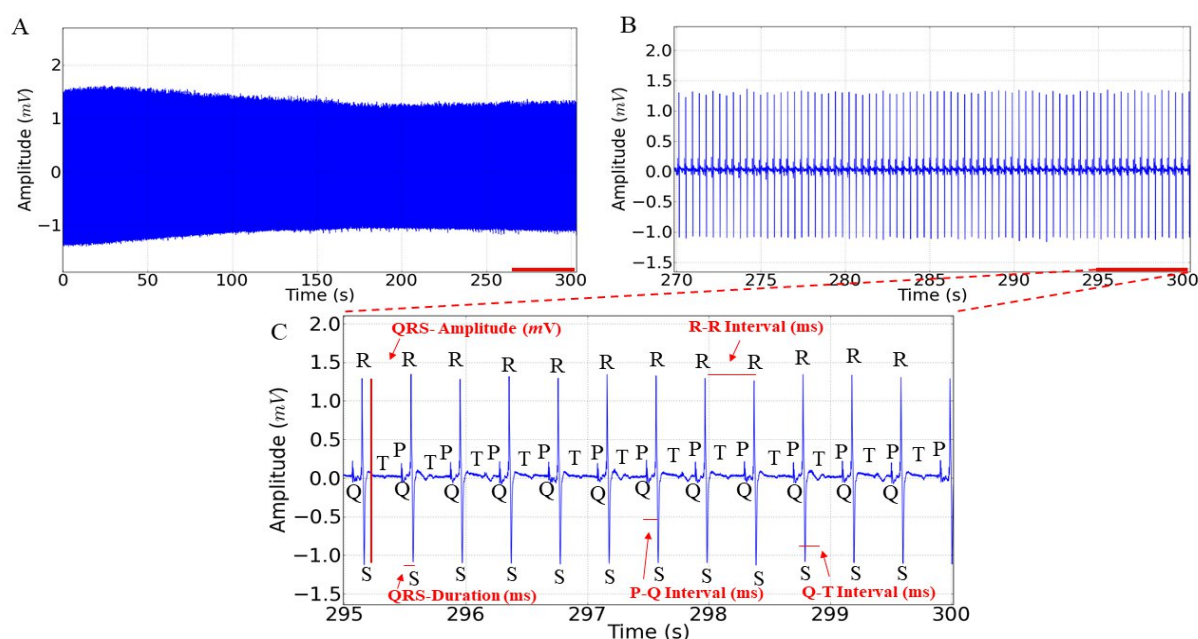


Figura 2. Registro eletrocardiográfico (ECG) normal do tambaqui, *Colossoma macropomum* com duração de 5 minutos (A), Eletrocardiograma ampliado nos 30 segundos finais do registro (270-300 s) (B); Amplificação dos 5 segundos finais do registro, demonstrando os elementos morfográficos, onda P, Complexo QRS e Onda T e elementos analisados: Frequência cardíaca (bpm), Amplitude do complexo QRS (mV), Intervalo P-Q (ms), intervalo R-R (ms), Duração de QRS (ms), intervalo Q-T (ms) (C).

A atividade cardíaca no grupo controle apresentou frequência média de 95.22 ± 7.77 bpm, foi semelhante ao grupo veículo ($p = 0.999$), apresentaram ritmo sinusal, com a presença de todas as deflagrações cardíacas do eletrocardiograma (Figura 2 A, B, C e 3 A).

Em amplificação de 30 segundos, todos os elementos do ECG podem ser observados, onda P que representa contração atrial, complexo QRS que representa contração ventricular e a Onda T que representa o período de repolarização ventricular. A partir da amplificação de 5 segundos houve a possibilidade da avaliação dos intervalos durante o tratamento com CLEO em banho de imersão e sua recuperação (Figura 3 A, B, C, D, E e F).

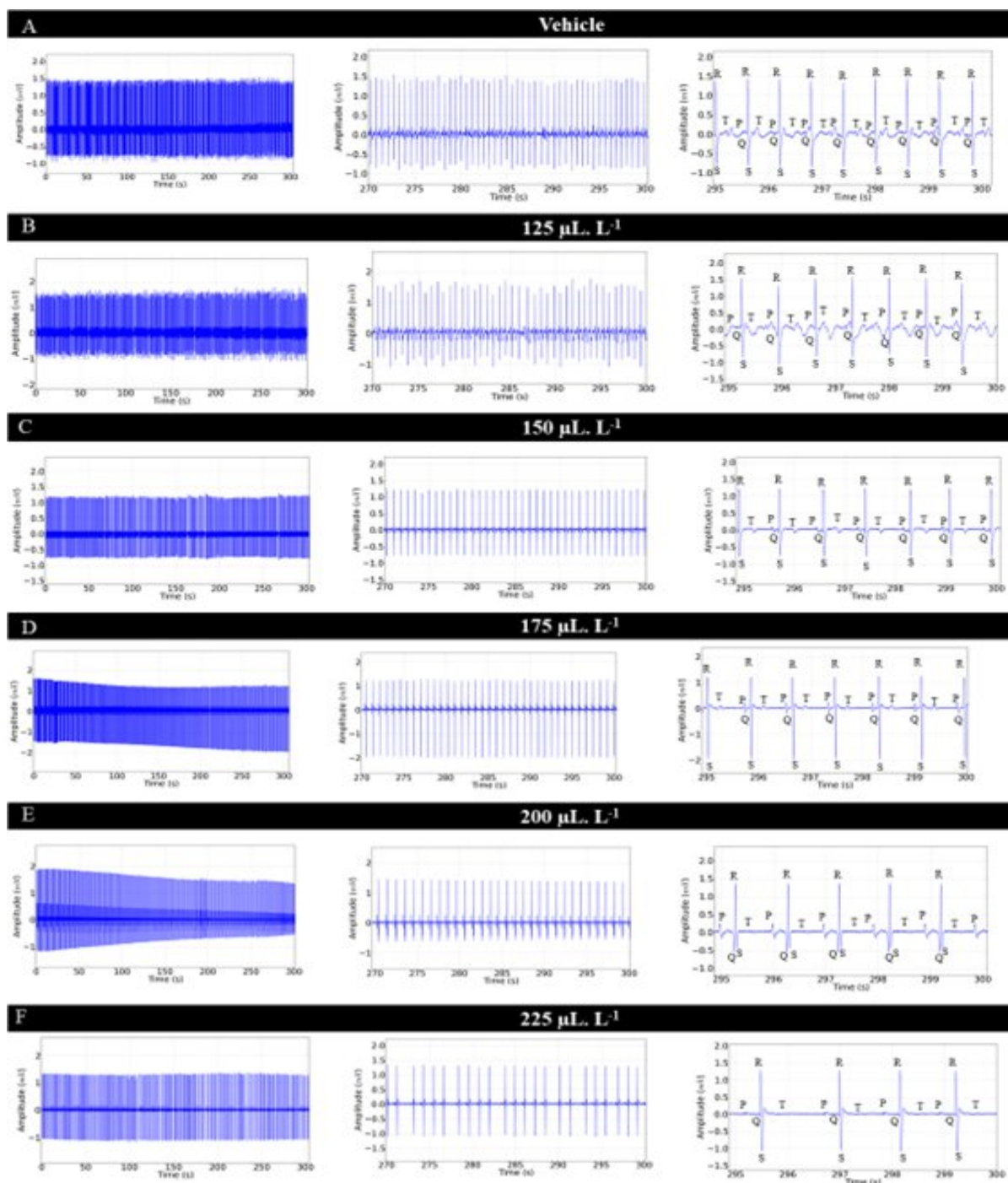


Figura 3. Traçado de registros eletrocardiográfico (ECG), demonstrando atividade cardíaca em juvenis de *Colossoma macropomum* (Esquerda), amplificação do últimos 30 segundos do registro de 5 minutos (270 - 300s) (centro), demonstrando os grafoelementos avaliados no trabalho demonstrando a onda P, o complexo QRS e onda T (amplificação de 5 s) (direita) Atividade cardíaca em juvenis de *Colossoma macropomum*, durante banho de imersão com o veículos com a descrição dos grafoelementos cardíacos (A); Grupos tratados em banho de imersão em diferentes concentrações de CLEO com suas Amplificação e identificação das deflagrações cardíacas : 125 $\mu\text{L. L}^{-1}$ (B), 150 $\mu\text{L. L}^{-1}$ (C), 175 $\mu\text{L. L}^{-1}$ (D) , 200 $\mu\text{L. L}^{-1}$ (E) e 225 $\mu\text{L. L}^{-1}$ (F).

Durante o tratamento em banho de imersão com 125 $\mu\text{L. L}^{-1}$ os peixes apresentaram diminuição 15.28 % na frequência cardíaca em relação ao grupo

controle (Figura 4 B) para o grupo tratado com $150 \mu\text{L.L}^{-1}$ de CLEO apresentou diminuição de 24.15% (Figura 4 C), grupo tratado com $175 \mu\text{L.L}^{-1}$ apresentou diminuição 24.61% (Figura 4 D), $200 \mu\text{L.L}^{-1}$ diminuiu 36.28% (Figura 4 E) e grupo tratado com $225 \mu\text{L.L}^{-1}$ apresentou diminuição 45.85% (Figura 4 F). Os peixes tratados apresentaram bradicardia com manutenção do ritmo sinusal, que foi intensificada pelo aumento da concentração (Figura 4 B, C, D, E e F).

A frequência cardíaca foi decaindo durante o tratamento com concentrações crescentes de CLEO. Os controles tiveram média de 95.22 ± 7.775 bpm, foi semelhante ao veículo ($p=0.999$). Porém, foram maiores que os demais grupos. O grupo tratado com $125 \mu\text{L.L}^{-1}$, apresentou média de (80.67 ± 3.0) bpm que foi superior aos demais grupos tratados. O grupo tratado com $150 \mu\text{L.L}^{-1}$ (72.22 ± 2.72 bpm) foi semelhante ao dos grupos tratados com $175 \mu\text{L.L}^{-1}$ ($p=0.999$), porém foram superiores em relação aos grupos tratados com $200 \mu\text{L.L}^{-1}$ e $225 \mu\text{L.L}^{-1}$. O grupo tratado com $225 \mu\text{L.L}^{-1}$ foi menor que os demais grupos (Figura 4 A).

A média de amplitude do complexo QRS do grupo controle foi de 1.634 ± 0.23 mV foi semelhantes aos demais grupos ($F(6, 56)=2.348$; $p=0.0430$) (Figura 4 B).

A média do intervalo RR do grupo controle foi de 633.1 ± 47.59 ms foi semelhante ao grupo veículo ($p=0.999$), foram menor em relação aos demais grupos. O grupo tratado com $125 \mu\text{L.L}^{-1}$ teve um intervalo RR médio de 743.9 ± 28.50 ms, sendo menor que os demais grupos tratados. O grupo de $150 \mu\text{L.L}^{-1}$ (831.4 ± 30.49 ms), foi semelhante aos grupos tratados com $175 \mu\text{L.L}^{-1}$ ($p=0.999$). O grupo tratado com $225 \mu\text{L.L}^{-1}$ foi maior que os demais (Figura 4 C).

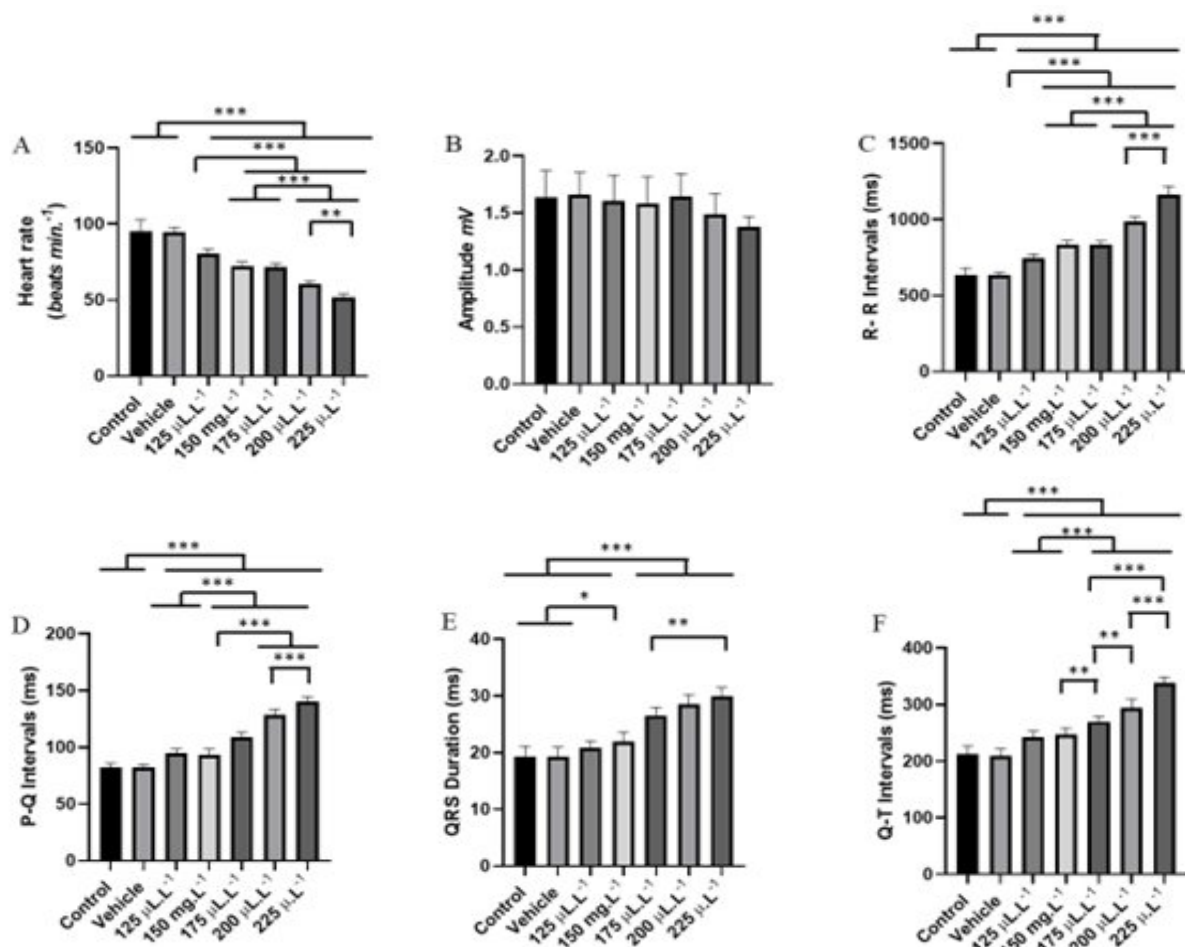


Figura 4. Valores médios da frequência cardíaca em batimentos por minuto (bpm) (A), valores de média de amplitude do complexo QRS (mV) (B), Valores médios de intervalos R-R (ms) (C), média do intervalo P-Q (ms) (D), duração do complexo QRS (ms) (E) e intervalo QT (ms) (F), durante a exposição ao CLEO nas concentrações de 125 $\mu\text{L.L}^{-1}$, 150 $\mu\text{L.L}^{-1}$, 175 $\mu\text{L.L}^{-1}$, 200 $\mu\text{L.L}^{-1}$ e 225 $\mu\text{L.L}^{-1}$ (ANOVA seguida do teste de Tukey; * $P<0.05$, ** $p<0.01$, *** $p<0.001$; $n=9$).

A média do intervalo PQ para o grupo controle foi de 82.22 ± 3.52 ms, não apresentou diferença para os grupos veículo ($p=0.999$). Os grupos tratados com 125 $\mu\text{L.L}^{-1}$ (94.56 ± 3.84 ms) e 150 $\mu\text{L.L}^{-1}$ foram semelhantes ($p=0.996$). O grupo tratado com 225 $\mu\text{L.L}^{-1}$ (140.0 ± 4.52 ms) apresentou intervalo PQ maior que os demais grupos (Figura 4 D).

A duração média do complexo QRS para o grupo controle durante a indução foi de 19.33 ± 1.80 ms foi semelhante ao grupo veículo e tratado com 125 $\mu\text{L.L}^{-1}$ ($p=0.512$), porém foram menores que os demais grupos. Os grupos tratados com 125 $\mu\text{L.L}^{-1}$ (20.78 ± 1.30 ms) foi semelhante ao grupo tratado com 150 $\mu\text{L.L}^{-1}$ ($p=0.7813$). O grupo tratado com 175 $\mu\text{L.L}^{-1}$ foi semelhante ao grupo tratado com 200 $\mu\text{L.L}^{-1}$ ($p=$

0.2027). O grupo tratado com 200 $\mu\text{L.L}^{-1}$ (28.44 ± 1.810 ms) foi semelhante ao grupo tratado com 225 $\mu\text{L.L}^{-1}$ ($p=0.512$) (Figura 4 E).

Para o grupo controle, a média do intervalo QT durante a indução foi de 211.9 ± 14.94 ms foi semelhante ao grupo veículo ($p=0.998$). O grupo tratado com 125 $\mu\text{L.L}^{-1}$ (242.2 ± 10.62 ms) foi semelhante ao grupo tratado com 150 $\mu\text{L.L}^{-1}$ ($p= 0.964$). O grupo tratado com 225 $\mu\text{L.L}^{-1}$ (338.4 ± 10.35 ms) foi maior que os demais grupos (Figura 4F).

Durante a recuperação da exposição nas concentrações utilizadas do CLEO de 125 $\mu\text{L.L}^{-1}$, 150 $\mu\text{L.L}^{-1}$, 175 $\mu\text{L.L}^{-1}$, 200 $\mu\text{L.L}^{-1}$ e 225 $\mu\text{L.L}^{-1}$, foi observado reversibilidade das alterações eletrocardiográficas (Figuras 5 A, B, C, D e E). Porém de forma lenta nos grupos tratados com concentrações maiores de CLEO.

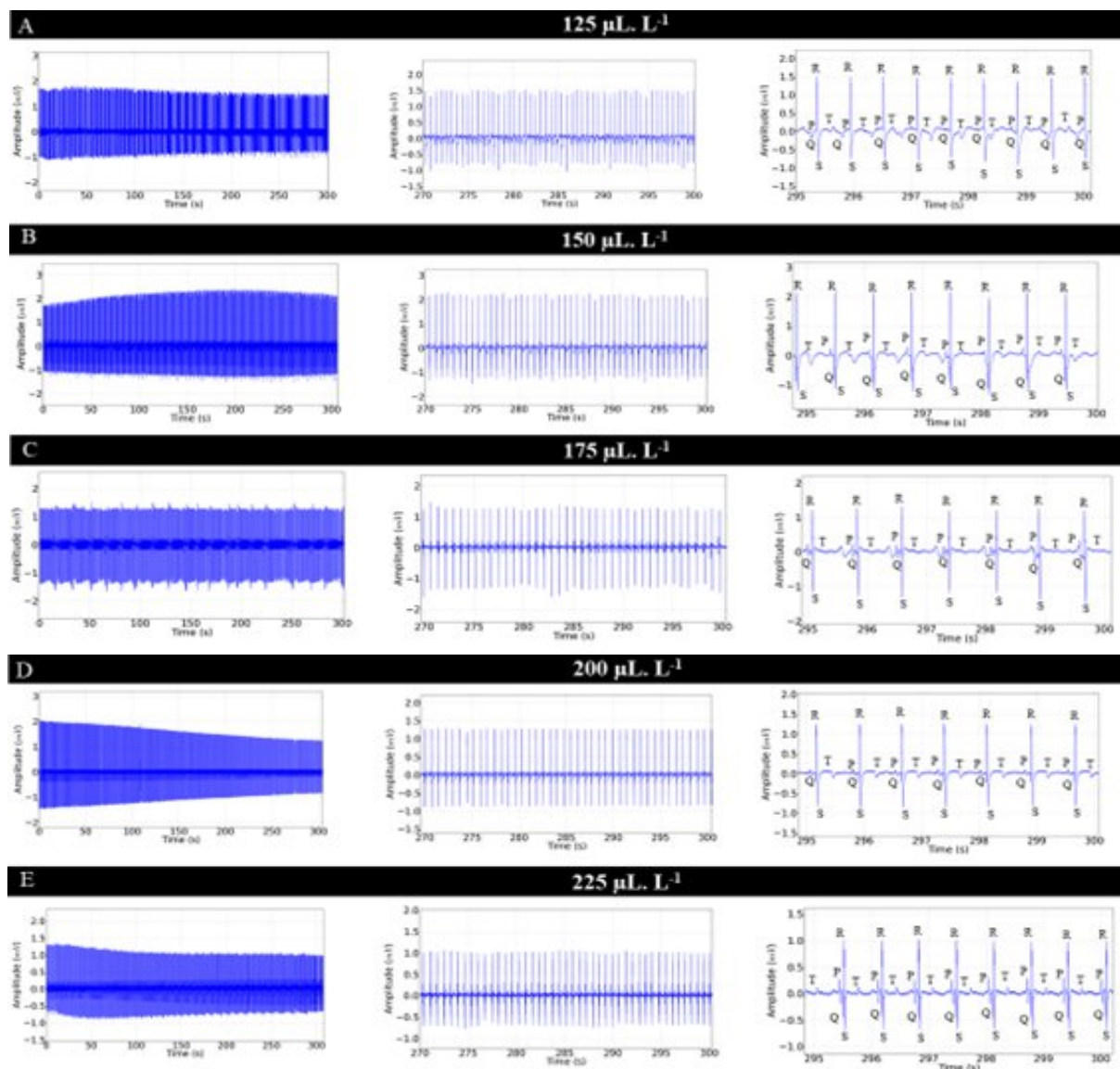


Figura 5. Atividade cardíaca em juvenis de *Colossoma macropomum*, durante a recuperação após banho de imersão com diferentes concentrações de CLEO (esquerdo). Amplificação do registro nos últimos 30 segundos (270-300 s), para identificação das deflagrações cardíacas (centro), no período de recuperação após banho de imersão com as seguintes concentrações de CLEO (ampliação de 5 s) (direita) : 125 $\mu\text{L.L}^{-1}$ (A), 150 $\mu\text{L.L}^{-1}$ (B), 175 $\mu\text{L.L}^{-1}$ (C), 200 $\mu\text{L.L}^{-1}$, (D) e 225 $\mu\text{L.L}^{-1}$ (E).

Durante a recuperação, o grupo controle apresentou média de frequência cardíaca de 95.22 ± 7.77 bpm, foi semelhante ao grupo veículo e também aqueles tratados com 125 $\mu\text{L.L}^{-1}$ ($p=0.4759$). Os grupos tratados com 150 $\mu\text{L.L}^{-1}$ ($85,11 \pm 2.26$ ms), demonstrou semelhança aos demais grupos ($p= 0.5156$) (Figura 6 A).

A amplitude do complexo QRS durante a recuperação para o grupo controle foi de 1.634 ± 0.238 mV, foi semelhante aos demais grupos ($F(6, 56) = 0.5940$, $p=0.7338$) (Figura 6 B).

O intervalo RR médio durante a recuperação para o grupo controle foi de 633.1 ± 47.59 ms, foi semelhante aos grupos veículo e $125 \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$ ($p=0.5850$). Os grupos tratados com $150 \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$ (704.9 ± 19.63 ms) foi semelhante aos grupos $175 \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$, $200 \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$ e $225 \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$ ($p= 0.2349$) (Figura 6 C).

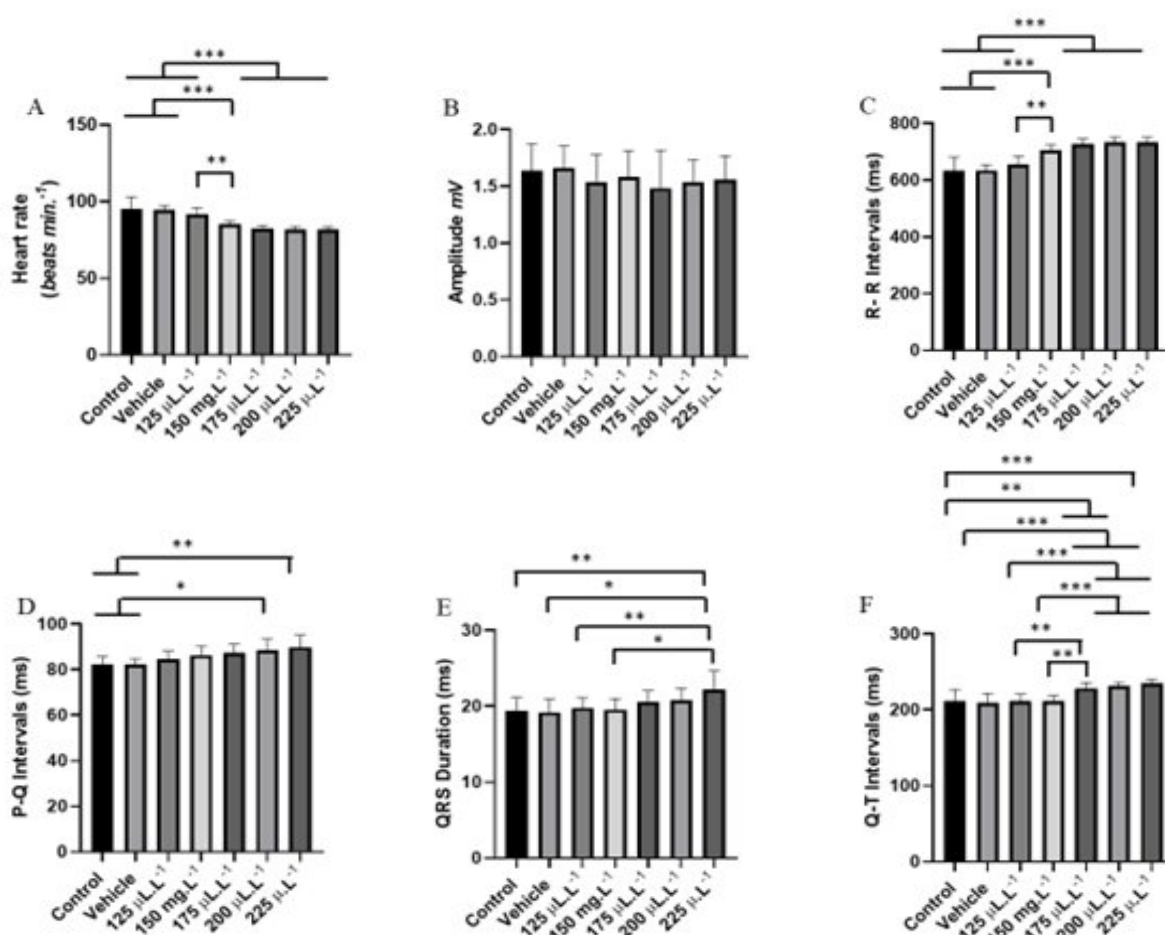


Figura 6. Valores médios dos parâmetros cardíacos durante a recuperação ao tratamento com diferentes concentrações de CLEO em banho de imersão a $125 \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$, $150 \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$, $175 \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$, $200 \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$ e $225 \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$. Valores de médias da frequência cardíaca (BPM) (A), Amplitude do QRS (mV) (B), Intervalo R-R (ms) (C), intervalos P-Q (ms) (D); duração do complexo QRS (ms) (E) e intervalo QT (ms) (F). (ANOVA seguida do teste de Tukey; * $P < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$; $n=9$).

O intervalo PQ durante a recuperação no controle foi de 82.22 ± 3.528 ms, foi semelhante ao grupo veículo e tratados com $125 \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$, $150 \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$ e $175 \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$ ($p=0.0914$). Os grupos tratados com $200 \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$ e $225 \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$ apresentaram média superior ao grupo controle e veículo, porém foram semelhantes aos demais grupos tratados ($p=0.091$) (Figura 6 D).

A duração do complexo QRS durante a recuperação o grupo controle apresentou média (19.33 ± 1.80 ms) foi semelhante ao veículo e grupos tratados com $125 \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$ $150 \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$, $175 \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$ e $200 \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$ ($p= 0.3891$). Os grupos tratados com $225 \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$ foi semelhante aos grupos tratados com $175 \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$ e $200 \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$ ($p= 0.3891$) (Figura 6 E) .

Durante a recuperação, o intervalo QT para o controle foi de 211.9 ± 14.94 ms foi semelhante ao grupo veículo, grupos $125 \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$ e $150 \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$ ($p= 0.9957$). Os grupos tratados com $175 \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$ (228.7 ± 4.92 ms) foi semelhante aos grupos $200 \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$ e $255 \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$ ($p=0.7295$), porém, foram superiores aos demais grupos (Figura 6 F).

6.4 Avaliação GABAérgica com flumazenil

Após a aplicação do flumazenil 1 mg/kg i.p. houve aumento da latência para o comportamento de perda de reflexo de postura para todas as concentrações de CLEO testadas. O grupo foi tratado com flumazenil seguida do banho de imersão em $125 \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$ apresentou aumento de 263.13%, o mesmo ocorreu com os grupos $150 \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$ (208.02%), $175 \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$ (181.4%), $200 \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$ (223.22%) e $225 \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$ (215.77%), demonstrando que após aplicação de flumazenil as latências foram maiores (Figura 7A).

Durante o período de recuperação, o grupo que recebeu flumazenil apresentou menor latência após o tratamento com diferentes concentrações de CLEO. O grupo tratado com $125 \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$ apresentou diminuição na latência para recuperação do reflexo de postura de 53.99%, $150 \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$ (48.18%), $175 \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$ (52.10%) e $200 \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$ (43.26%) e $225 \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$ (38.99%) (Figura 7 B).

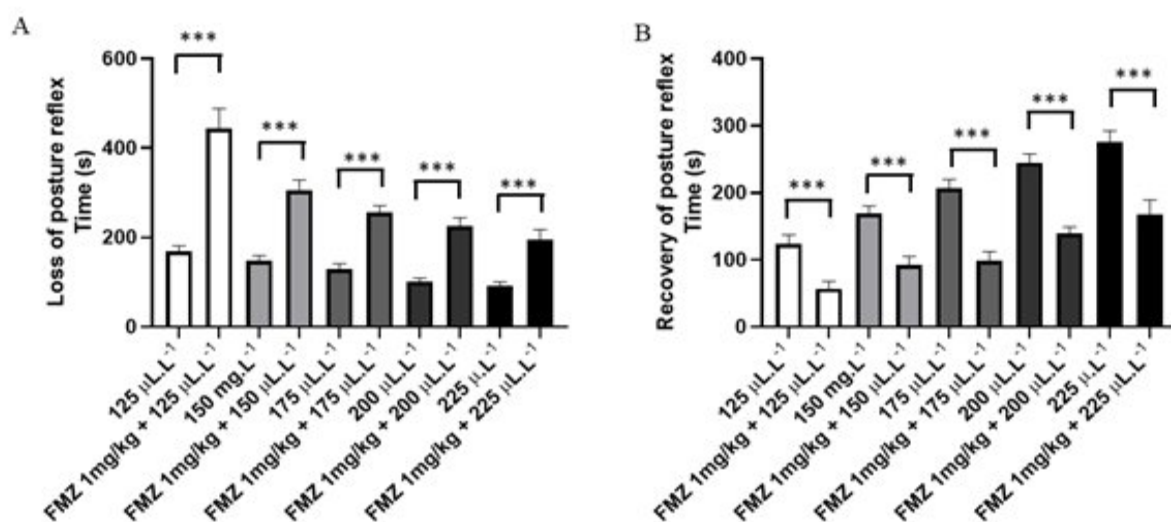


Figura 7. Gráfico demonstrando os Valores médios de latência em segundos para perda do reflexo de postura após aplicação de flumazenil 1mg/kg i.p. durante o banho de imersão nas concentrações de 125 µL. L⁻¹, 150 µL. L⁻¹, 175 µL. L⁻¹, 200 µL. L⁻¹, 225 µL. L⁻¹ de CLEO (A); Valores de média de latência para a recuperação do reflexo de postura após contato com CLEO (B). (ANOVA seguida do teste de Tukey; ***p<0.001; n=9).

7. DISCUSSÃO

A presença da Ar-turmerona como componente majoritário foi demonstrada em outros estudos (ZHANG et al., 2017; GUIMARÃES et al., 2020; ZHENG et al., 2020), este monoterpeno é conhecido por seu potencial terapêutico (AVANÇO et al., 2017; KHEIRA et al., 2020) e suas propriedades anestésicas estão sendo investigadas.

A Ar- turmerona, assim como outros monoterpenos, apresenta semelhança química a alguns anestésicos sintéticos (FÉLIX et al., 2023) que são largamente utilizados em indução anestésica em peixes, como o propofol, por exemplo.

A indução anestésica por óleo de cúrcuma, evidenciada durante a avaliação comportamental, foi demonstrada pela perda de reflexo postural. Isto pode ser justificado pela composição deste óleo que é repleta de terpenos, como monoterpenos e sesquiterpenos, sendo a ar-turmerona um destes compostos.

Estudos relatam que os monoterpenos, por conta de sua estrutura fenólica, modulam receptores do ácido γ -aminobutírico subtipo A (GABA A) (BIANCHINI et al., 2017; KASAI et al., 2014; KHUMPIRAPANG et al., 2018) e que este mecanismo seria responsável pela indução anestésica em peixes já que deste modo agem os anestésicos usados em anestesia geral utilizados em humanos (ZHOU et al., 2012).

Os parâmetros comportamentais, observados tanto na indução quanto na recuperação anestésica, se mostraram dose dependente, pois os grupos que receberam maiores doses de óleo apresentaram perda de reflexo postural mais rápida e uma reversibilidade desta ação mais lenta (DOS SANTOS et al., 2022; VIEIRA et al., 2023; DOS SANTOS et al., 2024).

Quanto aos resultados da avaliação eletrocardiográfica, evidenciou-se que a maior concentração do anestésico ocasionou maior depressão do coração, afetando a FC, no entanto, o ritmo sinusal foi mantido. Resultados semelhantes foram observados em Cantanhêde et al., (2021), onde a administração de mentol em *Colossoma macropomum* provocou diminuição da atividade cardíaca de maneira dose-dependente, mas com reversibilidade para o estado basal.

Outros estudos investigativos que utilizaram a função cardíaca como marcador de eficácia terapêutica, demonstraram a redução da função do coração do Tambaqui quando expostos a diferentes concentrações anestésicas de óleos essenciais de

Nepeta cataria e citronela, também com total recuperação do quadro pós-anestesia (DE SOUZA et al., 2019; BARBAS et al., 2017).

Quanto ao intervalo QRS mostrado no resultado do ECG, observou-se um aumento na duração deste complexo com aumento da dose de óleo de cúrcuma, no entanto a indução anestésica com a dose mínima mostrou um resultado semelhante ao obtido com o grupo controle. Estes resultados nos mostram, assim como no estudo de De Sousa et al. (2019) e Vilhena et al. (2022), que mesmo com aumento no complexo QRS, que revela ativação elétrica dos ventrículos, houve recuperação da contração cardíaca e manteve o ritmo sinusal dos peixes.

Durante os experimentos, de indução e recuperação anestésicas, com óleo de cúrcuma apresentaram bradicardia com sinais de intensificação diretamente relacionada ao aumento da concentração do CLEO, porém mantendo o ritmo sinusal. Ademais, alterações no segmento ST não foram observados no registros do ECG o que sugere não haver bloqueio atrioventricular (BAV), este dado difere do resultado obtido no estudo realizado por Dos Santos et al. (2024) em que foram utilizadas as mesmas concentrações de óleo de *Nepeta cataria* em *C. macropomum*.

Estudos já demonstraram que um intervalo QT mais prolongado pode levar a alterações negativas na atividade cardíaca, como irregularidade dos batimentos (KIM et al., 2010). Contudo, a cúrcuma longa não provocou esses efeitos nos tambaquis, sugerindo uma possível segurança cardiovascular.

Este resultado revela segurança no uso do óleo, pois a ausência de bloqueio AV indica preservação da condução elétrica miocárdica (ZENA et al., 2024), descartando a possibilidade de isquemia cardíaca ou alterações na perfusão sanguínea.

Por fim, ainda quanto à cardiotoxicidade, os resultados deste estudo reiteram que doses menores de óleo são mais seguras para uso nos juvenis de tambaqui, pois em nosso estudo o grupo foi exposto à dose de 125 $\mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$ mostrou reversão da função cardíaca semelhante ao grupo controle e o grupo exposto à dose de 150 $\mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$ apresentou uma recuperação de 90.08%. Isto evidencia um contraponto ao estudo de Saccol et al. (2017) que utilizou doses bem superiores de óleo de cúrcuma em seu estudo (200 $\mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$, 300 $\mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$ e 500 $\mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$), sendo a indução de anestesia em tambaquis juvenis observada apenas nos grupos expostos a dose de 200 $\mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$.

Quanto aos resultados referentes ao experimento 3, o pré-tratamento com flumazenil, um antagonista do receptor benzodiazepínico, aumentou o tempo de latência para perda do reflexo de postura e antecipou a recuperação do reflexo de postura. O que demonstra a participação dos receptores GABA-A como via de ativação para os componentes do CLEO que podem atuar de forma alostérica sinérgica ao neurotransmissor inibitório ácido- Gama- Aminobutírico.

Quanto à avaliação da atuação do CLEO no receptor GABAA-benzodiazepínico para induzir seus efeitos no sistema nervoso central do *Colossoma macropomum* submetidos ao banho de imersão. Estudos indicam a presença dos receptores GABA-A benzodiazepínicos no sistema nervoso de peixes (WOLKERS et al., 2015; CAO et al., 2019; MCGRATH et al., 2021). Várias substâncias que estão sendo identificadas pela ciência podem atuar nos receptores GABA-A benzodiazepínico (FALESCHINI et al., 2023).

Diante do exposto acima, sugere-se que o mecanismo de ação dos componentes do CLEO envolvem o neurotransmissor inibitório GABA o que foi constatado após o uso prévio de flumazenil, indicando que os mecanismos subjacentes a anestesia provocada pelo CLEO envolvem mecanismos de potencialização do sistema GABAérgico.

7. CONCLUSÃO

Nosso estudo permitiu avaliar a atividade anestésica do CLEO em diferentes concentrações de tratamento demonstrando a reversibilidade dos efeitos comportamentais e cardíacos, observamos de acordo com os resultados a faixa segura para anestesia de curta duração podem incluir as concentrações utilizadas de 125 a 225 $\mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$.

Para anestesia mais profunda recomendamos a concentração de 200 a 225 $\mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$ sem grandes comprometimentos da atividade cardíaca que revele alteração na hemodinâmica dos animais.

O mecanismo de ação dos componentes do CLEO envolve o neurotransmissor inibitório GABA o que foi constatado após o uso prévio de flumazenil, o que indica que os mecanismos subjacentes a anestesia provocada pelo CLEO envolvem mecanismos de potencialização do sistema GABAérgico.

REFERÊNCIAS

- ABDEL-AZIZ, M.F.A. **Effect of some environmental conditions and protein quality on reproductive and productive performance of red hybrid tilapia (*Oreochromis sp.*)**. 2013. MSc thesis, Animal Dep., Fac. Agri., Fayoum university, Egypt.
- AGGARWAL, B.B.; HARIKUMAR, K.B. Potential therapeutic effects of curcumin, the anti-inflammatory agent, against neurodegenerative, cardiovascular, pulmonary, metabolic, autoimmune and neoplastic diseases. **The International Journal Of Biochemistry & Cell Biology**, [S.L.], v. 41, n. 1, p. 40-59, jan. 2009. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biocel.2008.06.010>.
- ANGEL, G.R., MENON, N., VIMALA, B., NAMBISAN, B. Essential oil composition of eight starchy *Curcuma* species. **Ind. Crops Prod.** 60, 233–238, 2014.
- ARNAOUT, R. et al. Zebrafish model for human long QT syndrome. **Proc Natl Acad Sci. U S A.** 104(27):11316-11321, 2007. doi:10.1073/pnas.0702724104
- AVANÇO, G.B. et al. *Curcuma longa* L. essential oil composition, antioxidant effect, and effect on *Fusarium verticillioides* and fumonisin production. **Food Control** 73:806–813, 2017. DOI: 10.1016/j.foodcont.2016.09.032.
- 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. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.734999>.
- AYDIN, I., AKBULUT, B., KUCUK, E., & KUMLU, M. Effects of temperature, fish size and dosage of clove oil on anaesthesia in turbot (*Psetta maxima* Linnaeus). **Journal of Fisheries and Aquatic Science**. Sci, 15, 899–904, 2015.
- BALDISSEROTTO, B. et al. Anesthesia of tambaqui *Colossoma macropomum* (Characiformes: Serrasalminidae) with the essential oils of *Aniba rosaeodora* and *Aniba parviflora* and their major compound, linalool. **Neotrop. Ichthyol.** 16, 10–15, 2018. <https://doi.org/10.1590/1982-0224-20170128>.
- BALDISSEROTTO, B., GOMES, L.C. **Espécies nativas para piscicultura no Brasil**. 2ª edição. Santa Maria: Editora da UFSM, 2010.
- BAMBIRRA, M.L.A.; JUNQUEIRA, R.G.; GLÓRIA, M.B.A. Influence of post harvest processing conditions on yield and quality of ground turmeric (*Curcuma longa* L.). **Braz. Arch. Biol. Technol.** 45, 423–429, 2002.
- BARBAS, L. A. L. et al. Essential oil of citronella modulates electrophysiological responses in tambaqui *Colossoma macropomum*: a new anaesthetic for use in fish. **Aquaculture**, 479, 60-68, 2017.
- BARBAS, L. A. L. et al. Properties of two plant extractives as anaesthetics and antioxidants for juvenile tambaqui *Colossoma macropomum*. **Aquaculture**, 469, 79-87, 2017.

BARBAS, L. A. L. et al. Jambu, *Spilanthes acmella* as a novel anaesthetic for juvenile tambaqui, *Colossoma macropomum*: secondary stress responses during recovery. **Aquaculture**, 456, 70-75, 2016.

BATISTA, E. S. et al. *Lippia alba* essential oil as anesthetic for tambaqui. **Aquaculture**, 495, 545– 549. 2018.

BECKER, A. G. et al. Can the essential oil of *Aloysia triphylla* have anesthetic effect and improve the physiological parameters of the carnivorous freshwater catfish *Lophiosilurus alexandri* after transport? **Aquaculture**, 481, 2017.

BECKER, A. G. et al. Transportation of silver catfish, *Rhamdia quelen*, in water with eugenol and the essential oil of *Lippia alba*. **Fish Physiol. Biochem.** 38, 789–796, 2012. doi: 10.1007/s10695-011-9562-4.

BIANCHINI, A.E. et al. Monoterpenoids (Thymol, carvacrol and S-(+)-linalool) with anesthetic activity in silver catfish (*Rhamdia quelen*): Evaluation of acetylcholinesterase and GABAergic activity. **Brazilian J. Med. Biol. Res.** 50, 1–8. 2017. <https://doi.org/10.1590/1414-431x20176346>.

BOAVENTURA, T.P. et al. Cultivation of juvenile *Colossoma macropomum* in different colored tanks in recirculating aquaculture system (RAS): effects on performance, metabolism and skin pigmentation. **Aquaculture**. 532, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.736079>.

BOIJINK, L. et al. Anesthetic and anthelmintic effects of clove basil (*Ocimum gratissimum*) essential oil for tambaqui (*Colossoma macropomum*). **Aquaculture**. 457, 24–28, 2016.

BORGES J, SATURNINO K, CRUZ V, ARAÚJO E. Ação Antioxidante Da Curcumina (*Curcuma Longa* L.) Na Injúria De Isquemia E Reperfusão Tecidual. **Enciclopédia Biosf.** 16(29):48–62, 2019.

BORGES, L. M. F., SOUSA, L. A. D., & BARBOSA, C. S. Perspectives for the use of plant extracts to control the cattle tick *Rhipicephalus* (*Boophilus*) microplus. **Revista Brasileira de Parasitologia**, 20, 89-96, 2019.

BRANDÃO, F. R., et al. Anesthetic potential of the essential oils of *Aloysia triphylla*, *Lippia sidoides* and *Mentha piperita* for *Colossoma macropomum*. **Aquaculture**. 534, 736275, 2021.

BRANDÃO, F. R.; GOMES, L. C.; CHAGAS, E. C. Respostas de estresse em pirarucu (*Arapaima gigas*) durante práticas de rotina em piscicultura. **Acta Amazônica**, v. 36, n. 3, p. 349-356, 2006.

BROWMAN, H. I. et al. Welfare of aquatic animals: Where things are, where they are going, and what it means for re- search, aquaculture, recreational angling, and commercial fishing. **ICES Journal of Marine Science**. 76, 82– 92, 2019. <https://doi.org/10.1093/icesjms/fsy067>.

CAMPBELL, H. A.; TAYLOR, E. W.; EGGINTON, S.. The use of power spectral analysis to determine cardiorespiratory control in the short-horned sculpin *Myoxocephalus scorpius*. **Journal Of Experimental Biology**, [S.L.], v. 207, n. 11, p. 1969-1976, 2004. The Company of Biologists. <http://dx.doi.org/10.1242/jeb.00972>.

CAO, Y. et al. Flumazenil-insensitive benzodiazepine binding sites in GABAA receptors contribute to benzodiazepine-induced immobility in zebrafish larvae. **Life Sci.** Dec 15;239:117033, 2019. doi: 10.1016/j.lfs.2019.117033.

CARTER, K. M., WOODLEY, C. M., & BROWN, R. S. A review of tricaine methanesulfonate for anesthesia of fish. **Reviews in Fish Biology and Fisheries**, 21, 51– 59, 2011. <https://doi.org/10.1007/s11160-010-9188-0>.

CHARUN, M. Two new species of *Curcuma* L. (Zingiberaceae) from Thailand. **Biodiversitas**. 22, 3910–3921, 2021.

CLAIREAUX, G. et al. Linking swimming performance, cardiac pumping ability and cardiac anatomy in rainbow trout. **Journal of Experimental Biology**, 208(10), 1775–1784, 2005. <https://doi.org/10.1242/jeb.01587>.

COLLYMORE, C. et al. Efficacy and safety of 5 anesthetics in adult zebrafish (*Danio rerio*). **Journal of the American Association for Laboratory Animal Science**, 53, 198– 203, 2014.

COTTER, P. A. Cardiac hemodynamics of the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) using simultaneous Doppler echocardiography and electrocardiography. **Journal of Experimental Zoology A-Ecological and Integrative Physiology**, 309A(5), 243–254. 2008. <https://doi.org/10.1002/jez.453>

DA COSTA, B. M. A. et al. Integrated behavioural, neurological, muscular and cardiorespiratory response in tambaqui, *Colossoma macropomum* anaesthetized with menthol. **Aquaculture**, 560, 738553, 2022.

DAVIS, M.W. Fish stress and mortality can be predicted using reflex impairment. **Fish and Fisheries**, 11(1), 1-11, 2010.

DAVIS, K.B., GRIFFIN, B.R. Physiological responses of hybrid striped bass under sedation by several anesthetics. **Aquaculture**. 233, 531–548, 2004.

DE SOUZA, A.S.L. et al. 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. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.10.017>.

DELBON, M. C.; PAIVA, M. R. Eugenol em juvenis de tilápia: concentrações e administrações sucessivas. **Boletim do Instituto de Pesca**, 38(1): 43-52, 2012.

DOS SANTOS, M.F. Behavioral and electrophysiological study in *Colossoma macropomum* treated with different concentrations of *Nepeta cataria* oil in an

immersion bath revealed a therapeutic window for anesthesia. **Fish Physiol Biochem.** 50(4):1651-1665, 2024. doi: 10.1007/s10695-024-01361-2.

DOSOKY, N.S; SETZER, W.N. Chemical Composition and Biological Activities of Essential Oils of *Curcuma* Species. **Nutrients.** 1;10(9):1196, 2018. doi: 10.3390/nu10091196.

EMATER, Associação de Assistência Técnica e Extensão Rural do Estado de Rondônia. Sistema de Produção do Tambaqui, 2ed (revisada, atualizada e ampliada). Porto Velho: 2006. 36p.

EVERS, H. G., PINNEGAR, J. K., & TAYLOR, M. I. Where are they all from?– Sources and sustainability in the ornamental freshwater fish trade. **Journal of Fish Biology**, 94, 909– 916, 2019. <https://doi.org/10.1111/jfb.13930>.

FALESCHINI, T. A neolignan from *Connarus tuberosus* as an allosteric GABAA receptor modulator at the neurosteroid binding site. **Biomed Pharmacother.** 161:114498, 2023.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. El estado mundial de la pesca y la acuicultura. Oportunidades y desafíos. 274p. 2014.

FARRELL, A. P., & SMITH, F. Cardiac form, function and physiology. In A. K. Gamperl, T. E. Gillis, A. P. Farrell, & C. J. Brauner (Eds.), **Fish physiology**, the cardiovascular system: Morphology, control and function (36A, pp. 155–264). Cambridge, MA: Academic Press, 2017.

FELIX, L. M. et al. Malformations and mortality in zebrafish early stages associated with elevated caspase activity after 24 h exposure to MS-222. **Toxicology and Applied Pharmacology**, 412, Article 11538, 2021.

FORSTER, M. E., & FARRELL, A. P. The volumes of the chambers of the trout heart. **Comparative Biochemistry and Physiology A-Physiology**, 109(1), 127–132, 1994. [https://doi.org/10.1016/0300-9629\(94\)90318-2](https://doi.org/10.1016/0300-9629(94)90318-2).

GAMPERL, A. K., & DRIEDZIC, W. R. Cardiovascular function and cardiac metabolism. In J. G. Richards, A. P. Farrell, & C. J. Brauner (Eds.), Hypoxia. **Fish physiology** (27, pp. 301–360). Burlington, VT: Academic Press, 2009. [https://doi.org/10.1016/S1546-5098\(08\)00007-1](https://doi.org/10.1016/S1546-5098(08)00007-1).

GAMPERL, A. K., & FARRELL, A. P. Cardiac plasticity in fishes: Environmental influences and intraspecific differences. **Journal of Experimental Biology**, 207(15), 2539–2550, 2004. <https://doi.org/10.1242/jeb.01057>.

GAMPERL, A. K., & SHIELS, H. A. Cardiovascular system. In D. H. Evans, J. B. Claiborne, & S. Currie. (Eds.), **The physiology of fishes** (4th ed., pp. 33–80). Boca Raton, FL: CRC Press, 2014.

GENGE, C.E. et al. Reviews of Physiology, **Biochemistry and Pharmacology**, vol. 171. Springer International Publishing, Cham, pp. 99–136, 2016.

GIRME, A. et al. Quantitative determination and characterization of a kashmir saffron (*Crocus sativus* L.)-based botanical supplement using single-laboratory validation study by HPLC-PDA with LC-MS/MS and HPTLC Investigations. **ACS Omega**.6(36):23460–74, 2021.

GOMES, L.C. et al. Transportation of juvenile tambaqui (*Colossoma macropomum*) in a closed system. **Braz. J. Biol.** 66, 493–502, 2006.

GOULDING, M.; CARVALHO, M. L. Life history and management of the tambaqui (*Colossoma macropomum*, Characidae): an important Amazonian food fish. **Revista Brasileira de Zoologia**, 1, 107-133, 1982. doi: 10.1590/S0101-81751982000200001.

GUILHERME, H.O. et al. Feeding, growth, and blood chemistry of the tambaqui (*Colossoma macropomum*) held under self-feeding and time-restricted automatic feeding conditions. **Aquac. Int.** 30, 323–339, 2022. <https://doi.org/10.1007/s10499-021-00801-7>.

GUIMARÃES, I.G., MIRANDA, E.C., & ARAÚJO, J.G. Coefficients of total tract apparent digestibility of some feedstuffs for Tambaqui (*Colossoma macropomum*). **Animal Feed Science and Technology**, 188, 150–155. 2014. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2013.11.007>.

GUIMARÃES, A. F. et al. Essential oil of *Curcuma longa* Rhizomes chemical composition ,yield variation stability. **Quim. Nova**, Vol. 43, No. 7, 909-913, 2020.

HAMOY, A. O. et al. Behavioral, electrocorticographic and electrocardiologic changes in *Colossoma macropomum* (Tambaqui) in the effect of cunaniol. **PLoS One**.Jun 30;18(6):e0287681, 2023.

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

HASAN, H., FARIDA, & ERTIYASA, G. Different concentration of rubber seed extract (*Hevea brasiliensis*) for anesthetic to the survival of prospective broodstock milkfish by using closed transportation. **Jurnal Ruaya**, 4(2), 55–62, 2016.

HOHLENWERGER, J. C. et al. Essential oil of *Lippia alba* in the transport of Nile tilapia. **Ciência Rural**, 47(3), 2017. <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20160040>.

HOSEINI, S. M., MIRGHAED, A. T., & YOUSEFI, M. Application of herbal anaesthetics in aquaculture. **Reviews in Aquaculture**, 11, 550– 564, 2019. <https://doi.org/10.1111/raq.12245>.

IBGE, 2020. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – Produção de aquicultura.<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/tabela/listabl.asp?c=3940&z=t&o=21>. (Accessed 19.09.2024).

IDREESS, H. G. et al. Turmeric: An important medicinal plant in the treatment of many diseases: A review study. **Kufa Journal for Nursing Sciences**, 13(2), 229–237. 2023.

IFY, O. A.; et al. The Antimicrobial, Anti Inflammatory and Analgesic Activities of the Rhizome Extract of *Curcuma longa* L. (Turmeric). **Journal of Advances in Biology & Biotechnology**, [S. l.], v. 24, n. 6, p. 1–16, 2021. DOI: 10.9734/jabb/2021/v24i630217.

INOUE, L.A.K.A. et al. Avaliação de respostas metabólicas do tambaqui exposto ao eugenol em banhos anestésicos. **Acta Amazonica**, 42: 327-342, 2011.

ITOKAWA, H. et al. Recent advances in the investigation of curcuminoids. **Chin. Med**, 2008, 11, 3.

JAVAHERY, S., NEKOUBIN, H., & MORADLU, A. H. Effect of anaesthesia with clove oil in fish. **Fish Physiology and Biochemistry**, 38, 1545–1552, 2012. 2012. <https://doi.org/10.1007/s10695-012-9682-5>.

JONES, M. et al. How should we monitor welfare in the ornamental fish trade? **Reviews in Aquaculture**, 14, 770– 790, 2021.

KASAI, M., HOSOSHIMA, S., & YUN- FEI, L. Menthol induces surgical anesthesia and rapid movement in fishes. **The Open Neuroscience Journal**, 8, 1–8, 2014. <https://doi.org/10.2174/1874082001408010001>.

KHEIRA, M. et al. Chemical Composition and Antioxidant and Antimicrobial Activities of *Curcuma longa* L. Essential Oils. **Egyptian Journal of Chemistry**. 66(7): 283-295, 2023. doi: 10.21608/ejchem.2022.121586.5555.

KHUMPIRAPANG, N. et al. In vivo anesthetic effect and mechanism of action of active compounds from *Alpinia galanga* oil on *Cyprinus carpio* (koi carp). **Aquaculture**, 496, 176–184, 2018.

KIM, H. T. et al. Long QT syndrome provoked by induction of general anesthesia-A case report. **Korean Journal of Anesthesiology**, 59(Suppl), S114-S118, 2010.

KOOPMAN, C.D. et al. The zebrafish grime mutant uncovers an evolutionarily conserved role for Tmem161b in the control of cardiac rhythm. **Proc. Natl. Acad. Sci. Unit. States Am** 118 (9), e2018220118, 2021.

KUTTI GOUNDER, D.; LINGAMALLU, J. Comparison of chemical composition and antioxidant potential of volatile oil from fresh, dried and cured turmeric (*Curcuma longa*) rhizomes. **Ind. Crops Prod.** 38, 124–131, 2012.

LAHLOU, M. The Success of Natural Products in Drug Discovery. **Pharmacology & Pharmacy**, 04, pp. 17-31, 2013.

LE, T. et al. A novel wireless ECG system for prolonged monitoring of multiple zebrafish for heart disease and drug screening studies. **Biosens Bioelectron.** 1;197:113808, 2022.

LUZ, J.G.R. et al. Essential oil of *Alpinia zerumbet* (Zingiberaceae) has anthelmintic efficacy against monogenean of *Colossoma macropomum* (*Characiformes*:

Serrasalminae). **Aquac. Res.** 52, 5340–5349, 2021. <https://doi.org/10.1111/are.15404>.

MA, K.G.L. et al. Echocardiography and electrocardiography reveal differences in cardiac hemodynamics, electrical characteristics, and thermal sensitivity between northern pike, rainbow trout, and white sturgeon. **J. Exp. Zool.** 1–16, 2019. <https://doi.org/10.1002/jez.2310>.

MAU, J.L. et al. Composition and antioxidant activity of the essential oil from *Curcuma zedoaria*. **Food Chem.** 82, 583–591, 2003.

MCGRATH, M.; HOYT, H.; PENCE, A.; FORMAN, S.A.; RAINES, D.E. Selective actions of benzodiazepines at the transmembrane anaesthetic binding sites of the GABAA receptor: In vitro and in vivo studies. **Br J Pharmacol.** Dec;178(24):4842–4858, 2021.

MEROLA, N., & CANTELMO, O. A. . Growth, feed conversion and mortality of cagereared tambaqui, *Colossoma macropomum*, fed various dietary feeding regimes and protein levels. **Aquaculture**, 66(3-4), 223-233, 1987. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(87\)90108-6](https://doi.org/10.1016/0044-8486(87)90108-6).

MOCHO, J. P., & VON KROGH, K. A working group survey on fish species used for research, methods of euthanasia, health monitoring, and biosecurity in europe, north America, and oceania. **Biology**, 11, 1259, 2022. <https://doi.org/10.3390/biology11091259>.

MONTANARI, C.A. AND BOLZANI, V.S. Planejamento racional de fármacos baseado em produtos naturais. **Química Nova**, 24, 105-111, 2001. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422001000100018>.

NAKAYAMA, C.L. et al. Zootechnical performance and some physiological indices of tambaqui, *Colossoma macropomum* juveniles during biofloc maturation and in different feed regimes. **Agriculture** 12, 1025, 2022.

NAYLOR, R. L. et al. A 20- year retrospective review of global aquaculture. **Nature**, 591, 551– 563, 2021. <https://doi.org/10.1038/s41586-021-03308-6>.

NEMTSAS, P. et al. Adult zebrafish heart as a model for human heart? An electrophysiological study. **Journal of Molecular and Cellular Cardiology**, 48(1), 161-171, 2010.

PARVEEN, Z. et al. Composition and antimicrobial activity of the essential oil from leaves of *Curcuma longa* L. Kasur Variety. **Indian Journal of Pharmaceutical Sciences**, 75(1), 117-122. 2013.

PEIXE BR. Anuário Peixe-BR da piscicultura 2024. São Paulo. 2024.

PIPER, G. R. et al. Fish hatchery management. Washington, DC: United States Department of the Interior. p. 517, 1982.

POPOVIC, N.T et al. Tricaine methane-sulfonate (MS-222) application in fish anesthesia. **J. Appl. Ichthyol.** 28, 553–564, 2012. [https://doi.org/ 10.1111/j.1439-0426.2012.01950.x](https://doi.org/10.1111/j.1439-0426.2012.01950.x).

PRIBORSKY, J., AND VELISEK, J. A review of three commonly used fish anesthetics. **Rev. Fish. Sci. Aquac.** 26, 417–442, 2018. doi: 10.1080/23308249.2018. 1442812.

PRIMADONA, R., S. LESTARI, A. BAEHAKI. The effect of electric current on survival rate of fry finger (*Clarias* sp.) in dry transportation. **Fistech-Jurnal Teknologi Hasil Perikanan**, 6(2): 145-152, 2017.

PRIYA, R.; PRATHAPAN, A.; RAGHU, K.G.; NIRMALAMENON, A. Chemical composition and in vitro antioxidative potential of essential oil isolated from *Curcuma longa* L. leaves. **Asian Pac J Trop Biomed.** S695-9, 2012.

PURBOSARI, N. et al. Natural versus synthetic anesthetic for transport of live fish: a review. **Aquac. Fish.** 4, 129–133, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.aaf.2019.03.002>.

RAMANAYAKA, J. C., & ATAPATTU, N. S. B. M. Fish Anaesthetic properties of some local plant material. **Tropical Agricultural Research and Extension**, 9,1–6, 2006.

RANDALL, J.E. Tagging reef fishes in the Virgin Islands. **Proc. Gulf Caribb. Fish. Inst.** 14:201-241, 1962.

RAUT, J. S.; KARUPPAYIL, S. M. A status review on the medicinal properties of essential oils. **Ind. Crops Prod.** 62, 250–264, 2015. doi: 10.1016/j.indcrop.2014.05.055.

READMAN, G. D. et al. Species specific anaesthetics for fish anaesthesia and euthanasia. *Scientific Reports*, 7, 7102, 2017. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-06917-2>.

REZENDE, F. P. et al. Sedation of Nile tilapia with essential oils: Tea tree, clove, Eucalyptus, and mint oils. **Rev. Caatinga**, Mossoró. 30(2), 479–486, 2017.

RIBEIRO, A. S. et al. Anesthetic properties of *Ocimum gratissimum* essential oil for juvenile matrinxã. *Acta Sci. Anim. Sci.* 38, 1–7, 2016.

ROSS, L.G.; ROSS, B. Anaesthetic and sedative techniques for aquatic animals. In: *Journal of Fish Biology*, 3rd ed. Blackwell Publisher, 2008. <https://doi.org/10.1006/jfbi.2000.1267>.

SACCHETTI, G. et al. Comparative evaluation of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobials in foods. **Food Chem.** 91, 621–632, 2005.

SAINT- PAUL, U. Native fish species boosting Brazilian's aquaculture development. **Acta of Fisheries and Aquatic Resources**, 5, 1– 9, 2017.

SALBEGO, J. et al. The essential oil from *Lippia alba* induces biochemical stress in the silver catfish (*Rhamdia quelen*) after transportation. **Neotropical Ichthyology**, 12, 811– 818, 2014. <https://doi.org/10.1590/1982-0224-20130178>.

SAMESIMA, N. et al. Diretriz da Sociedade Brasileira de Cardiologia sobre a Análise e Emissão de Laudos Eletrocardiográficos. **Arq. Bras. Cardiol.**, 119(4), 638-680, 2022.

SANTOS, F.A.C. Growth performance and physiological parameters of *Colossoma macropomum* in a recirculating aquaculture system (RAS): importance of stocking density and classification. **Aquaculture** 534, 736274, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.736274>.

SCHRAMM, A. et al. Phytochemical profiling of *Curcuma kwangsiensis* rhizome extract, and identification of labdane diterpenoids as positive GABAA receptor modulators. **Phytochemistry** 96, 318–329, 2013.

SCHROEDER, P. Anaesthesia of laboratory, aquaculture and ornamental fish: Proceedings of the first LASA-FVS Symposium, 55 pp. 317–328). **Laboratory Animals Limited**, 2021. <https://doi.org/10.1177/0023677221998403>.

SIKHA, A.; HARINI, A.; PRAKASH, H. Pharmacological activities of wild turmeric (*Curcuma aromatica Salisb*): A review. **J. Pharmacogn. Phytochem.** 3, 1–4. 2015.

SIMÕES, C. et al. **Farmacognosia do produto natural ao medicamento**. Porto Alegre, pp. 502 – 537, 2017.

SLOMAN, K. A. et al. Ethical considerations in fish research. **Journal of Fish Biology**, 94, 556– 577, 2019. <https://doi.org/10.1111/jfb.13946>.

SPANGHERO, D. B. N. et al. Peppermint essential oil as an anesthetic for and toxicity to juvenile silver catfish. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 54, e00367, 2019. <https://doi.org/10.1590/s1678-3921.pab2019.v54.00367>.

SUWANDI, R., NUGRAHA, R., & ZULFAMY, K. E. Aplikasi ekstrak daun jambu *Psidium guajava* var. *pomifera* pada proses transportasi ikan nila (*Oreochromis niloticus*) **JPHPI**, 16(1), 69–78, 2013.

TAHERI MIRGHAED, A., GHELICHPOUR, M., HOSEINI, S.M. Myrcene and linalool as new anesthetic and sedative agents in common carp, *Cyprinus carpio* - comparison with eugenol. **Aquaculture** 464, 165–170, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.06.028>.

TAHERI MIRGHAED, A. et al. Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) anesthesia with myrcene: Efficacy and physiological responses in comparison with eugenol. **Fish Physiol. Biochem.** 44, 919–926, 2018b. <https://doi.org/10.1007/s10695-018-0481-5>.

TAVARES-DIAS, M.; MARTINS, M.L. An overall estimation of losses caused by diseases in the Brazilian fish farms. **Journal of Parasitic Diseases**, v. 41, p. 913–918, 2017.

TEIXEIRA, R.R. Essential oil of *Aloysia Triphylla* is effective in Nile Tilapia transport. **Bol. Inst. Pesca** 44, 17–24, 2018.

TONDOLO, J.S.M. et al. Anesthesia and transport of fat snook *Sentropomus parallelus* with the essential oil of *Nectandra megapotamica* (Spreng.) Mez. *Neotrop. Ichthyol.* 11 (3), 667–674, 2013. <https://doi.org/10.1590/S1679-62252013000300020>.

TONI, M. et al. Review: Assessing fish welfare in research and aquaculture, with a focus on European directives. **Animal**, 13, 161–170, 2019. <https://doi.org/10.1017/S1751731118000940>.

TOPIC POPOVIC, N. et al. Tricaine methane-sulfonate (MS-222) application in fish anaesthesia. **Journal of Applied Ichthyology**, 28, 553–564, 2012. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0426.2012.01950.x>.

TOTA, B., & GATTUSO, A. Heart ventricle pumps in teleosts and elasmobranchs: A morphodynamic approach. **Journal of Experimental Zoology**, 275(2-3), 162–171, 1996.

TSUCHIYA, H. Anesthetic agents of plant origin: A review of phytochemicals with anesthetic activity. **Molecules**, 22, 1369, 2017. <https://doi.org/10.3390/molecules2081369>.

VAL, A.L.; ALMEIDA-VAL, V. M. F. fishes of the Amazon and Their environment: Physiological and Biochemical Aspects. Berlin: Springer Verlag, 1995. 154pp.

VAL, L.A; HONCZARYK, A. Criando peixes na Amazônia, ed INPA, Manaus 1995. 150pp.

VALENTIM, D.S.S. et al. Nanoemulsion from essential oil of *Pterodon emarginatus* (Fabaceae) shows in vitro efficacy against monogeneans of *Colossoma macropomum* (Pisces: Serrasalminidae). **J. Fish Dis.** 41, 443–449, 2018. <https://doi.org/10.1111/jfd.12739>.

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

VIEIRA, L.R. et al. Graded concentrations of lidocaine hydrochloride in the modulation of behavioral, cardiac, and muscular responses of the Amazon freshwater fish tambaqui (*Colossoma macropomum*). **Aquaculture**. 563:738985, 2023.

VIEIRA, E.L.P. et al. Short-term preservation of *Colossoma macropomum* oocytes by different methods and chilling temperatures. **Theriogenology** 191, 22–34, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2022.07.010>.

VIJAYASTELTAR, B. L., KOTTARAPAT, J. & RAMADASAN, K. An evaluation of antioxidant, anti-inflammatory, and antinociceptive activities of essential oil from *Curcuma longa* L. **Indian Journal of pharmaceutical Sciences**, 43(5), 526-531, 2011. <https://dx.doi.org/10.4103%2F0253-7613.84961>.

VILHENA, C.S. et al. Cardiac response in tambaqui *Colossoma macropomum* anaesthetised with *Piper divaricatum* essential oil. **Fish Physiol Biochem.** 48(5):1413-1425, 2022. doi: 10.1007/s10695-022-01132-x. Epub 2022 Oct 12. PMID: 36222995.

VILHENA, C.S. et al. Essential oil of *Piper divaricatum* induces a general anaesthesia like state and loss of skeletal muscle tonus in juvenile tambaqui, *Colossoma macropomum*. **Aquaculture** 510, 169–175, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.05.057>.

WEDEMEYER, G. A. Physiology of fish in intensive culture systems. Chapman e Hall, 2, 10-59, 1996.

WENDELAAR BONGA, S. E. The stress response in fish. **Revista Physiologia**, 77 (3), 591- 625, 1997.

WOLKERS, C.P. et al. GABAA-benzodiazepine receptors in the dorsomedial (Dm) telencephalon modulate restraint-induced antinociception in the fish *Leporinus macrocephalus*. **Physiol Behav.** 1;147:175-82, 2015. doi: 10.1016/j.physbeh.2015.04.037. Epub 2015 Apr 23. PMID: 25914173.

YOUSEFI, M. et al. Thymol as a new anesthetic in common carp (*Cyprinus carpio*): Efficacy and physiological effects in comparison with eugenol. **Aquaculture** 495, 376–383, 2018a.

YU, Z.F., KONG, L.D. & CHEN, Y. Antidepressant activity of aqueous extracts of *Curcuma longa* in mice. **Journal of Ethnopharmacology** 83, 161–165, 2002.

ZAHL, I.H.; SAMUELSEN, O.; KIESSLING, A. Anaesthesia of farmed fish: implications for welfare. **Fish Physiol Biochem** 38:201–218, 2012.[https:// doi. org/ 10. 1007/ s10695- 011- 9565-1](https://doi.org/10.1007/s10695-011-9565-1).

ZENA, L.A. et al. It takes time to heal a broken heart: ventricular plasticity improves heart performance after myocardial infarction in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. **J Exp Biol** 1;224(23):jeb243578, 2021. doi: 10.1242/jeb.243578.

ZHANG, L. et al. Composition and bioactivity assessment of essential oils of *Curcuma longa* L. collected in China. **Ind Crops Prod** 109(15):60-73, 2017.

ZHENG.Y. et al. Antiaging effect of *Curcuma longa* L. essential oil on ultraviolet irradiated skin. **Microchemical Journal** 154;104608, 2020.

ZHOU, C., LIU, J., & CHEN, X. D. General anesthesia mediated by effects on ion channels. **World Journal of Critical Care Medicine**, 1, 80–93, 2012. <https://doi.org/10.5492/wjccm.v1.i3.80>.

ZIELINSKA- BLAJET, M., & FEDER- KUBIS, J. Monoterpenes and their derivatives recent development in biological and medical applications. **International Journal of Molecular Sciences**, 21, 1– 38, 2020. [https:// doi.org/10.3390/ijms21197078](https://doi.org/10.3390/ijms21197078).

