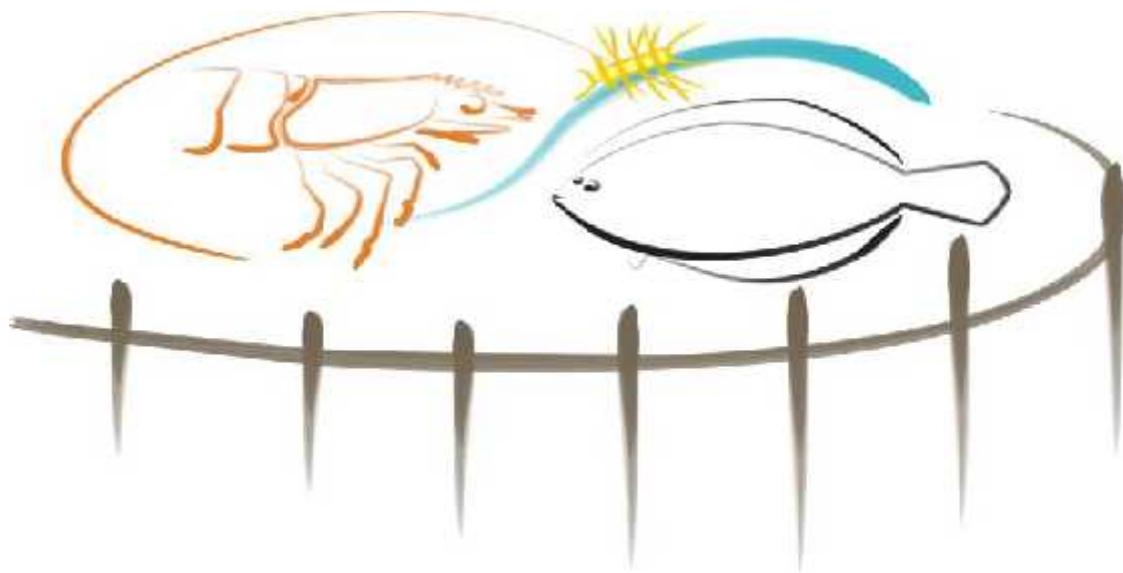


**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE – FURG**  
**INSTITUTO DE OCEANOGRAFIA – IO**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA – PPGAqui**



**A UTILIZAÇÃO DE ANESTÉSICOS NA SEDAÇÃO E TRANSPORTE DE  
JUVENIS DO CAMARÃO BRANCO *Litopenaeus vannamei***

**ALESSANDRA JANAÍNA BECKER**

**Rio Grande, RS, 2016**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE – FURG**  
**INSTITUTO DE OCEANOGRAFIA – IO**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA – PPGAqui**

**A UTILIZAÇÃO DE ANESTÉSICOS NA SEDAÇÃO E TRANSPORTE DE  
JUVENIS DO CAMARÃO BRANCO *Litopenaeus vannamei***

Alessandra Janaína Becker

**Orientador:** Prof. Dr. Ricardo Berteaux Robaldo

**Co-orientador:** Prof. Geraldo Kipper Fóes

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do grau de mestre em Aquicultura no Programa de Pós-Graduação em Aquicultura da Universidade Federal do Rio Grande.

**Rio Grande – RS – Brasil**

**Março de 2016**

## ÍNDICE

AGRADECIMENTOS.....	v
1 - RESUMO GERAL.....	vii
2 - ABSTRACT GERAL.....	viii
3 - INTRODUÇÃO GERAL.....	1
4 - OBJETIVOS.....	18
5 - ARTIGO ANEXO.....	34
6 – CONCLUSÃO.....	60

## Lista de Figuras

- Figura 1.** Imagem do camarão branco *Litopenaeus vannamei*.....1
- Figura 2.** Tempo necessário para a indução aos estágios de sedação, anestesia e recuperação para juvenis do camarão *L. vannamei* expostos a banhos de imersão com os anestésicos: A) Mentol; B) Benzocaína; C) *C. lemon*; E) *C. sinsensis* e D) *E. globulus*.....54
- Figura 3.** Valores de mortalidade para o teste de estresse com juvenis do camarão *L. vannamei* submetido aos tratamentos: controle (água do mar pura), 252mg L<sup>-1</sup> de *C. lemon* e 900mg L<sup>-1</sup> de *E. globulus*. Diferentes letras indicam diferenças significativas entre os tratamentos.....59
- Figura 4.** Níveis de glicose na hemolinfa para camarões, *L. vannamei*, após o transporte de 12h nos tratamentos: controle (água do mar pura), etanol, 9mg L<sup>-1</sup> e 90mg L<sup>-1</sup> de *E. globulus*. Diferentes letras indicam diferenças significativas entre os tratamentos.....59

## Lista de Tabelas

- Tabela 1.** Tempo requerido para indução e recuperação da anestesia para juvenis do camarão *L. vannamei* expostos aos anestésicos: benzocaína, mentol, *C. lemon*, *C. sinensis* e *E. globulus*. Diferentes letras na mesma coluna indicam diferenças significativas entre os tratamentos.....53
- Tabela 2.** Parâmetros físico-químicos da água durante o teste de sobrevivência no tempo 12h, após o teste de estresse com juvenis de camarões *L. vannamei* anestesiados e não anestesiados. Diferentes letras na mesma linha indicam diferenças significativas entre os tratamentos.....55
- Tabela 3.** Parâmetros físico-químicos da água durante o teste de sobrevivência no tempo 24h, após o teste de estresse com juvenis de camarões *L. vannamei* anestesiados e não anestesiados. Diferentes letras na mesma linha indicam diferenças significativas entre os tratamentos.....55
- Tabela 4.** Parâmetros de qualidade da água para o transporte (12h) de juvenis do camarão branco *L. vannamei* em sacos plásticos de polietileno nos seguintes tratamentos: controle (água do mar pura), etanol e 90mg L<sup>-1</sup> de *E. globulus* adicionado na água. Diferentes letras na mesma linha indicam diferenças significativas entre os tratamentos.....56
- Tabela 5.** Parâmetros de qualidade da água durante o período de recuperação dos camarões *L. vannamei* após o transporte. Diferentes letras na mesma linha indicam diferenças significativas entre os tratamentos.....56

## AGRADECIMENTOS

A CAPES pela concessão da bolsa.

A banca pela presença e sugestões.

A minha família, em especial! Aos meus pais, João e Renate, pelo apoio, incentivo e dedicação em todos os momentos da minha vida. Aos meus irmãos, Alexssandro, meu exemplo de biólogo e pesquisador, Alexandre, meu exemplo de força e coragem e Alex, meu exemplo de paciência e compreensão. Mesmo distantes, de certa forma sempre continuamos juntos.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Ricardo Berteaux Robaldo, pela orientação.

Ao professor Wilson Wasiliesky pela disponibilidade de participar desse trabalho.

Ao Dr. Geraldo Fróes pela ajuda, suporte e orientações durante os experimentos.

As amigadas formadas na EMA durante esse período: Bruna, Hermes, Anthenor, Adriana, Paula, Natalia, Bilas.

As Minas da casa azul, Dentinho, Xúlia e Kumbaiá, pelos risos, conversas, aprendizados, laricas, festas, enfim pela melhor convivência, tornando esses dias no Cassino sempre agradáveis. Não esquecendo da Camila dog, membro oficial da casa e do “rolês”.

A minha amiga Rhana, parceira de todas as horas e que em tão pouco tempo se tornou uma grande e importante amiga!

Aos tantos outros amigos, que foram feitos por esse Cassinão!

Tantas pessoas e tantos momentos que ficarão sempre guardados.

Enfim, a todos com quem tive o prazer de conviver nesses dois últimos anos!

Obrigada a todos!!!

## RESUMO

O camarão branco *Litopenaeus vannamei* é uma das principais espécies produzidas na aquicultura mundial. Muitas práticas de rotina podem gerar estresse e comprometer o estado fisiológico dos camarões, levando a uma redução no desempenho e sobrevivência. As substâncias anestésicas reduzem e tranquilizam os animais, diminuindo os custos metabólicos no transporte e melhorando a manipulação durante procedimentos aquícolas. Portanto, o objetivo deste trabalho, foi determinar os tempos de indução e recuperação para juvenis de camarão *L. vannamei* submetidos a banhos de imersão, em aquários com 1L de água, nos diferentes anestésicos: benzocaína (300, 400, 500mg L<sup>-1</sup>), mentol (600, 800, 1000mg L<sup>-1</sup>), *Citrus lemon* (84, 168, 252mg L<sup>-1</sup>), *Citrus sinensis* (84, 168, 252mg L<sup>-1</sup>) e *Eucalyptus globulus* (450, 675, 900mg L<sup>-1</sup>). Além disso, também foi avaliado concentrações para uso em práticas de manejo e transporte. No teste de estresse, os camarões foram inicialmente expostos aos tratamentos: controle (água do mar pura) por 5min e 252mg L<sup>-1</sup> *C. lemon* ou 900mg L<sup>-1</sup> *E. globulus*, até atingirem o estágio 2 de anestesia. Em seguida, foram expostos ao ar (30s) para o corte do rostro. Ao final, foram transferidos, aleatoriamente, para tanques (50L) com diferentes salinidades (2 ou 29ppm) para avaliação da sobrevivência (48h) (n=10camarões/tratamento/triplicata). Para o transporte, 120 camarões foram distribuídos, ao acaso, em sacos plásticos de polietileno com 10L de água e transportados por 12h nos seguintes tratamentos: controle (água do mar), etanol, 9 e 90mg L<sup>-1</sup> de *E. globulus*. No final, coletou-se a hemolinfa de dois camarões, por réplica, para a determinação da glicose. Os demais espécimes foram transferidos para tanques de recuperação (50L) por 24h. Quase todos os anestésicos apresentaram tempos de indução dentro do esperado (<5min), com exceção das concentrações de 700mg L<sup>-1</sup> de mentol e 450 mg L<sup>-1</sup> de *E. globulus*. Os tempos de indução para *E. globulus* foram concentração-dependentes. Benzocaína e mentol apresentaram os maiores tempos de recuperação (>10min). O OE de *C. lemon* resultou em elevada taxa de mortalidade no teste de estresse para ambas as salinidades. Os tratamentos com *E. globulus* apresentaram sobrevivência total durante o transporte e no período de recuperação. Menores níveis de glicose foram encontrados nos camarões transportados em 90mg L<sup>-1</sup> de *E. globulus*. Em conclusão, todos os anestésicos foram eficazes para sedação do *L. vannamei*. No entanto, o mentol não é indicado para anestésiar o camarão branco. As

concentrações de 400 e 500mg L<sup>-1</sup> de benzocaína podem ser indicadas para procedimentos de longa duração. Para ensaios de indução são recomendadas as concentrações de 300mg L<sup>-1</sup> de benzocaína, 84mg L<sup>-1</sup> de *C. sinensis*, 168mg L<sup>-1</sup> *C. lemon* e 450 ou 900mg L<sup>-1</sup> de *E. globulus*. A concentração de 90mg L<sup>-1</sup> de *E. globulus* pode ser utilizada para transportar camarões, pois demonstra efeitos positivos na qualidade da água e no desempenho dos animais durante e após o transporte.

## ABSTRACT

The white shrimp *Litopenaeus vannamei* is one of the main species produced in aquaculture worldwide. Many routine practices can create stress and compromise the physiological state of the shrimp, leading to reduced performance and survival. Anesthetic substances reduce and tranquilize the animals, reducing metabolic costs in transportation and improving handling in aquaculture. Therefore, the present study aimed to evaluate the induction and recovery times for juveniles of the white shrimp, *L. vannamei*, subjected to immersion baths, into aquariums of 1L water, with different anesthetics: benzocaine (300, 400, 500mg L<sup>-1</sup>), menthol (600, 800, 1000mg L<sup>-1</sup>), *C. lemon* (84, 168, 252mg L<sup>-1</sup>), *C. sinensis* EO (84, 168, 252mg L<sup>-1</sup>) and *E. globulus* (450, 450, 900mg L<sup>-1</sup>). Were also evaluated, concentrations for the procedures for handling and transport. In the stress test, shrimps were initially exposed to treatments: control (pure seawater) for 5min and 252mg L<sup>-1</sup> *C. lemon* or 900mg L<sup>-1</sup> *E. globulus*, until reaching stage 2 of anesthesia. After, were exposed to air (30s) for cutting the rostrum. Then, were transferred randomly to tanks with different salinities (2 or 29ppm) for assessment of survival (48h) (n=10shrimps/treatment /triplicate). For transportation, 120 shrimps were distributed, in random, in polyethylene plastic bags with 10L of water for 12 hours in following treatments: 0 (control), ethanol, 9 and 90mg L<sup>-1</sup> of *E. globulus*. At the end, hemolymph was collected of two shrimps, per replicate, for analysis of glucose. The remaining specimens were transferred to recovery tanks (50L) for 24h. Almost all anesthetics showed induction times within the expected (<5min), with the exception of the concentrations of 700mg L<sup>-1</sup> of menthol and 450mg L<sup>-1</sup> of *E. globulus* EO. The induction times for *E. globulus* OE were concentration-dependent. Benzocaine and menthol exhibited higher times recovery (>10min). The shrimps anesthetized with OE of *C. lemon* presented high mortality in both salinities of the stress test. The treatments with *E. globulus* showed total survival during transport and recovery period. Lower glucose levels were found in shrimps transported 90mg L<sup>-1</sup> of *E. globulus*. In conclusion, all anesthetics were effective for sedation *L. vannamei*. However, menthol is not indicated to anesthetize the white shrimp. The concentrations of 400 and 500mg L<sup>-1</sup> benzocaine are indicate for long procedures. For induction tests are indicated concentrations of 300mg L<sup>-1</sup> of benzocaine, 84mg L<sup>-1</sup> of *C. sinensis*, 168mg L<sup>-1</sup> *C. lemon* and 450 or 900mg L<sup>-1</sup> of *E. globulus*, Furthermore, 90mg L<sup>-1</sup> of *E. globulus*, may be used to transport shrimps, because it shows positive effects on water quality and performance of animals during and after transport.

## INTRODUÇÃO

### Descrição da espécie

O camarão branco, *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931), pertencente a subordem Dendrobranchiata, família Penaeidae, popularmente conhecido como “camarão branco do Pacífico” ou “camarão cinza”, é uma espécie nativa da costa do Pacífico, ocorrendo desde o Golfo do México até o sul do Peru. É encontrado em áreas tropicais, com temperaturas acima de 20 °C. São animais bentônicos, que apresentam comportamento de escavação ou enterramento no substrato para alimentação, redução do gasto energético em períodos de inatividade ou como modo de proteção contra predadores. Apresentam o tégico aberto, cujos machos chegam a maturidade quando atingem em torno de 20g e as fêmeas 28g. Durante a fase larval, passam por diferentes estágios (náuplio, zoea, mysis e pós-larva), que são identificados de acordo com suas características morfológicas e pelo hábito alimentar. Os náuplios se alimentam das reservas vitelínicas, enquanto as fases de zoea e mysis de fitoplâncton e zooplâncton. As pós-larvas são numeradas conforme sua idade em dias de vida, sendo inicialmente plantônicas passando a bentônicas detritívoras quando em ambiente de estuário (Holthuis, 1980, Dall, 1990, FAO, 2016).



**Figura 1:** Imagem do camarão branco *Litopenaeus vannamei*. Fonte: Arquivo pessoal.

Os camarões peneídeos são caracterizados pela migração em diferentes ambientes durante o seu ciclo de vida, cuja fase larval e adulta ocorrem em mar aberto e a fase juvenil em ambiente de estuário, assim, sendo influenciados por amplas variações de salinidade e temperatura da água (Holthuis, 1980). Dessa maneira, a salinidade e a temperatura são considerados as principais variáveis abióticas que influenciam as

respostas metabólicas desses organismos durante o seu desenvolvimento (Ponce-Palafox *et al.* 1997). O camarão *L. vannamei* é uma espécie eurialina com capacidade de tolerar grandes variações de salinidade, abrangendo desde águas salobras (1-2ppt) até hipersalinas (40ppt) (Davis *et al.* 2004). Isso se deve, a sua habilidade de osmorregulação dos fluidos corporais em diferentes gradientes osmóticos. Em ambientes com salinidades maiores que o seu ponto isosmótico ocorre um controle no fluxo de íons para que a hemolinfa permaneça hipo-ósmotica em relação ao meio externo, por outro lado, em salinidades inferiores se mantém hiper-osmótica, afim de evitar perdas excessivas de água por osmose (Castille & Lawrence, 1981). Entretanto, em casos de mudanças bruscas de salinidade, estes animais podem não conseguir manter a capacidade osmorregulatória, devido ao alto gasto energético para preservar a homeostase contra o desequilíbrio iônico (Freire *et al.* 2008). No geral, pós-larvas nos estágios iniciais (<PL<sub>15</sub>) são menos tolerantes as oscilações de salinidade (Aquacop *et al.* 1991, Samocha *et al.* 1998, McGraw *et al.* 2002, Roy *et al.* 2007).

Outro fator abiótico de grande influência, tanto no ambiente natural, quanto no de cultivo, é a temperatura (Qiu *et al.* 2011). Os camarões são expostos diariamente a amplas flutuações de temperatura, as quais podem afetar o seu metabolismo, influenciando na alimentação, crescimento, reprodução e sobrevivência (Hennig & Andreatta, 1998, Yu *et al.* 2009, Souza *et al.* 2016). A faixa de temperatura considerada ideal para o crescimento do *L. vannamei* é de 28-32°C, contudo apresenta boas taxas de crescimento entre 24 a 35°C, tolerando temperaturas até 15°C (Van Wyk & Scarpa, 1999). Todavia, em temperaturas menores que 20°C, o camarão branco demonstra um comportamento de diminuição na taxa de consumo alimentar e redução dos movimentos corporais (Peixoto *et al.* 2003). Consequentemente, a temperatura afeta sobretudo o crescimento, enquanto a salinidade aumenta o custo metabólico dos camarões (Le Moullac & Haffner, 2000, Perez-Velazquez *et al.* 2012).

### **Sistema nervoso dos crustáceos**

O sistema nervoso dos crustáceos decápodes é formado por uma série de gânglios dispostos por todos os segmentos corporais e ligados a um duplo cordão nervoso ventral. Esses gânglios variam em grau de complexidade e funcionam como um cérebro (Ruppert & Barnes, 1996). Também apresentam receptores neuronais chamados sensilas sobre a superfície do exoesqueleto. Esses receptores são divididos em

mecanorreceptores, termorreceptores e quimiorreceptores (Brusca & Brusca, 2007). A ausência de um sistema nervoso central composto por córtex cerebral e o tamanho do cérebro são as justificativas usadas para validar a ideia de que esse grupo não sente dor (Rose, 2002). No entanto, os diferentes táxons podem exibir estruturas de mesma função com propriedades morfológicas distintas, demonstrando que a capacidade funcional dos sistemas é independente em cada grupo, não diminuindo a sua capacidade de consciência (Dawkins, 2012).

Sinais e respostas de dor não são claramente definidos para crustáceos como acontece em humanos (Elwood *et al.* 2011). A habilidade em reconhecer um estímulo prejudicial é considerado um fator evolutivo de sobrevivência, presente em todos os grupos animais, porém com diferenças nos padrões de resposta entre as diversas espécies (Broom, 2001, Rutherford, 2002). Existem vários conceitos para definir dor, segundo Sneddon *et al.* (2015) é uma experiência negativa associada a danos teciduais que alteram o comportamento do animal e estimulam reações de aprendizado contra acontecimentos traumáticos. No geral, a dor é dividida em dois componentes: nocicepção e “dor”. A nocicepção corresponde a capacidade de detecção e a resposta de retirada do local lesado ou do corpo inteiro do animal em virtude do agente nocivo. Já a “dor” é a experiência emocional ou o “sofrimento” que o animal vivencia (Broom, 2007, Elwood *et al.* 2011, Sneddon *et al.* 2014). Logo, a associação desses dois componentes leva a experiência da dor criada no córtex cerebral (Rose, 2014). Assim, para muitos pesquisadores, somente a presença da resposta de nocicepção não é necessariamente caracterizada como dor, mas somente um componente sensorial (Eisemann *et al.* 1984, Varner, 1999, Broom, 2007, Elwood & Appel, 2009).

Os camarões quando expostos a situações desagradáveis demonstram o comportamento de “retirada-e-fuga”, o que faz com que eles aprendam a evitar eventos traumáticos semelhantes posteriormente (Sneddon, 2015, Magee & Elwood, 2013). A avaliação do potencial de “sentir dor” nesses animais é principalmente através do comportamento, visto que apresentam várias características motoras de proteção (Bateson, 1991, Sherwin, 2001, Elwood *et al.* 2011, Gentle, 2011). A capacidade de aprendizagem e evasão foi observada em experimentos realizados com o caranguejo *Chasmagnathus granulatus*, cujo qual, foi colocado dentro de uma câmara dupla, com um dos compartimentos totalmente escuro e o outro com luz. Na parte iluminada o

animal era submetido a choques elétricos, fazendo com que ele passasse a evitar esse local durante as três horas seguintes, associando o compartimento a uma experiência negativa (Fernandez-Duque *et al.* 1992). Além disso, os crustáceos apresentam, reações motoras de fricção e autotomia em apêndices machucados (Sneddon *et al.* 2014). O camarão de vidro *Palaemon elegans* quando exposto a adição de soluções de ácido acético e hidróxido de sódio sobre as suas antenas demonstrou comportamento de fricção das quelíceras sobre as antenas e das antenas contra as paredes do tanque, exibindo reconhecimento do local lesado e do agente nocivo, o que pode estar relacionado a uma resposta reflexa nociceptiva. No entanto, no momento que as antenas foram previamente tratadas com benzocaína, como anestésico local, houve diminuição no atrito das antenas (Barr *et al.* 2008). Contudo, o processo de ação anestésica no sistema nervoso dos crustáceos ainda não é bem definido, não é claro se a diminuição da resposta está ligada a um efeito analgésico, de relaxamento muscular ou sedativo, porém parece estar relacionada com o grau de desenvolvimento e quantidade de sítios ativos de percepção (Lewbart & Mosley, 2012). Já foram identificados a presença de peptídeos opióides e seu receptores em muitos invertebrados, os quais são responsáveis pelo processo de analgesia endógena no SNC, porém não permite clara distinção entre capacidade de nocicepção ou dor (Elwood, 2012).

### **Resposta ao estresse em camarões**

O estresse é definido como um desequilíbrio no estado de homeostase fisiológica do animal, afim de manter esse estado de equilíbrio ele desenvolve mecanismos adaptativos de resposta (Coyle *et al.* 2005). No geral, as respostas ao estresse em crustáceos são classificadas em primária, secundária e terciária. O efeito primário, envolve o aumento da liberação do hormônio hiperglicêmico (HHc) resultando em alterações secundárias, como a elevação dos níveis de glicose e lactato na hemolinfa e mobilização das reservas de glicogênio no musculo e glândula digestiva (Huberman, 2000, Lorenzon *et al.* 2005, Aparicio-Simón *et al.* 2010). O HHc é um neuropeptídeo que compreende uma família de neuropeptídios hormonais, como o hormônio de inibição gonadal (HIG) e o hormônio de inibição da muda (HIM), formando a família HHc/HIG/HIM, sintetizados no órgão-X/glândula do seio, localizados no pedúnculo ocular. A principais funções do HHc são a mobilização da reserva energética, reprodução, regulação hidromineral, metabolismo de lipídios, síntese de hormônios

juvenis e inibição na produção dos ecdisteróides pelo órgão -Y, inibindo o processo de muda (Webster, 2015).

O HHc possui efeitos similares ao do cortisol em vertebrados, dessa forma, os níveis de glicose na hemolinfa são controlados através da interação entre o HHc e o metabolismo de carboidratos (Prymaczok *et al.* 2016). Por um mecanismo de feedback positivo, o lactato intensifica a liberação de HHc, promovendo a conversão do glicogênio em glicose. A alta concentração da glicose inibe a liberação de HHc por feedback negativo (Santos & Keller, 1993). Além do aumento nos níveis de glicose, a resposta secundária é responsável por alterações metabólicas, que influenciam desde parâmetros hematológicos, a variações nos níveis iônicos e liberação das proteínas de estresse ou proteínas de choque térmico (Zhou *et al.* 2010). As HSPs são chaperonas altamente conservadoras, nomeadas conforme o seu peso molecular e caracterizam – se por uma rápida resposta ao agente estressor, atuando de modo a impedir a desnaturação das células plasmáticas e na reparação e proteção das proteínas nucleares (Yenari *et al.* 1999). Por fim, a resposta terciária reflete diretamente na supressão do sistema imune do animal, tornando – o mais suscetível a possíveis infecções e influenciando no seu crescimento, ganho de peso e sobrevivência (Wilcockson *et al.* 2002).

O sistema circulatório dos camarões é do tipo aberto ou lacunar, formado por um coração dorsal localizado dentro de uma cavidade pericárdica, onde a hemolinfa flui através de um sistema de artérias que se ramificam pelos órgãos e estruturas (Brusca & Brusca, 2007). A hemolinfa dos crustáceos é formada por uma fração celular (hemócitos) e uma fração humoral (plasma) (Ruppert & Barnes, 1996). Diferente dos vertebrados, os crustáceos possuem somente sistema imune inato ou não - específico, portanto não apresentam especificidade a antígenos, nem memória imunológica (Wang & Wang, 2013). A resposta imune celular, mediada pelo hemócitos, compreende a fagocitose de microorganismos, encapsulação e formação de nódulos de agentes estranhos e mecanismos citotóxicos intracelulares em locais de infecção contra patógenos (Rodríguez & Le Moullac, 2000). Já a resposta imune humoral envolve os processos de coagulação da hemolinfa, melanização dos tecidos lesionados pelo sistema pró - fenoloxidase (PPO) e liberação de proteínas imunes, como os peptídeos antimicrobianos (AMPs), entre outros (Johansson & Söderhäll, 1989, Soderhäll &

Cerenius, 1992, Amparyup *et al.* 2013). Esses sistemas não são independentes, pois atuam em conjunto na formação da resposta imune.

O exoesqueleto compõe uma das primeiras linhas de defesa, formando uma barreira externa contra injúrias físicas, químicas e biológicas (Martínez, 2007). Uma vez que ocorre uma lesão tecidual, há possibilidades da ocorrência de invasões patogênicas, desencadeando uma série de reações imunológicas mediadas pelos hemócitos (Fingermann, 1997, Moreno *et al.* 2013). Os hemócitos são identificados de acordo com suas características morfológicas, bioquímicas e funcionais, sendo assim classificados em três diferentes subtipos: hialinos, semigranulares e granulares (Tsing *et al.* 1989). A proporção de cada tipo celular na hemolinfa varia entre as diversas espécies de crustáceos e o estado fisiológico. Situações de estresse podem diminuir os níveis de hemócitos circulantes, devido a uma supressão do sistema imune (Soderhal & Cerenius, 1998). Outro mecanismo de defesa importante é o processo de coagulação que atua rapidamente prevenindo a perda de hemolinfa e a invasão de microorganismos através da atividade de cicatrização da cutícula (Theopold *et al.* 2004). A avaliação do tempo de coagulação e a contagem no número de hemócitos são considerados bons indicadores imunológicos para a avaliação do estado de saúde dos camarões (Söderhäll & Cerenius, 1992, Perazzolo *et al.* 2005).

### **Histórico da carcinicultura no Brasil**

A carcinicultura no Brasil começou na década de 70 com a implementação do “Projeto Camarão” pelo estado do Rio Grande do Norte, visando a criação de camarões em locais de salinas desativadas, devido à crise que o setor enfrentava na época. Em conjunto com a EPARN se iniciou o processo de adaptação da espécie exótica *Penaeus japonicus* no país, o qual obteve resultados positivos nos anos iniciais, levando a implementação da primeira fazenda de criação de camarões nacional (Araújo, 2003). Entretanto, a ocorrência de chuvas intensas, após um significativo período de secas, gerou instabilidades nos cultivos, causando amplas variações de salinidade, demonstrando a falta de tecnologias necessárias para assegurar o desenvolvimento da produção deste camarão (Moles & Bunge, 2002). Esse período é conhecido como sendo a primeira fase da carcinicultura brasileira, caracterizada pelo domínio de sistemas extensivos de baixa densidade de estocagem (ABCC, 2016).

O conhecimento adquirido com o *P. japonicus* incentivou produtores e técnicos a investir na domesticação de espécies nativas, tais como *L. subtilis*, *Farfantepenaeus paulensis* e *Farfantepenaeus brasiliensis* como alternativa para a carcinicultura comercial, marcando a segunda fase do camarão cultivado no Brasil. Durante essa fase, intensificou - se o emprego de sistemas semi-intensivos, com melhores práticas no manejo da água e solo e intensificação no uso de rações. Isso refletiu em bons resultados, principalmente nas atividades de reprodução e larvicultura, contudo, apesar do potencial desses camarões, houve baixas produtividades e rendimentos. Isso ocorreu provavelmente, pela falta de rações no mercado que atendessem as necessidades nutricionais destas espécies (ABCC, 2016).

Dessa forma, se iniciou a terceira etapa da criação de camarões no país. O sucesso na produção do camarão exótico *L. vannamei* no Equador e Panamá, resultou na importação de pós – larvas e reprodutores como substituição aos camarões nativos dentro das fazendas produtoras (Natori *et al.* 2011). O domínio nas técnicas de reprodução e larvicultura, juntamente com os avanços e a intensificação dos sistemas de produção promoveram o desenvolvimento da atividade no país, principalmente por ser uma espécie de característica rústica, com boas taxas de reprodução, rápido crescimento e ótima capacidade de adaptação em diferentes condições ambientais (Costa & Sampaio, 2004). O sucesso comercial na produção possibilitou o surgimento de cultivos até mesmo nas regiões com temperaturas mais frias, como o sul do Brasil (Krummenauer *et al.* 2011). Assim, a carcinicultura brasileira se baseia diretamente na produção do camarão branco do Pacífico *L. vannamei* (Boone, 1931), a qual se concentra em maior proporção na região nordeste do país, sendo os estados do Ceará e Rio Grande do Norte seus principais produtores (Rocha, 2007, ABCC, 2016).

O Brasil é um país de grande potencial aquícola, possuindo uma das maiores reservas de água doce do planeta (13%), além de uma extensa faixa litorânea, clima favorável e imensa biodiversidade, o que lhe proporciona condições naturais favoráveis, porém o aproveitamento desses recursos para a aquicultura ainda é incipiente, devido à ausência de políticas públicas e incentivos fiscais nessa área (Valenti, 2000). Em contrapartida, atualmente, o Brasil se encontra entre os países que tem melhorado significativamente sua posição no ranking global, cuja produção em 2014 foi de 3,87

bilhões de toneladas, sendo 70,2% proveniente da piscicultura e 20,5% da criação de camarões (FAO, 2016, MPA 2014).

### **Transporte de crustáceos**

O transporte de crustáceos vivos é uma prática muito comum no país, e tem como principal objetivo, transportar pós – larvas para fazendas de criação, juvenis e adultos para a formação de plantel de reprodutores, como isca – viva para a pesca esportiva ou no comércio em feiras para consumo (Giroto *et al.* 2010, Foterdar & Evans, 2011, Jensen *et al.* 2012). É um importante procedimento que pode ser caracterizado muitas vezes como um evento traumático para o animal (Robertson *et al.* 1988). Por isso, para garantir o sucesso dessa prática, diversos fatores devem ser levados em consideração, como: a temperatura da água, espécie, tamanho do animal, densidade de estocagem, tempo de transporte, adição de anestésicos ou profiláticos e período de jejum (Lorenzon *et al.* 2007, Parodi *et al.* 2012, Souza *et al.* 2013, Jensen *et al.* 2014)

Existem dois tipos de sistemas comumente utilizados para transporte, o sistema aberto e o sistema fechado (Berka, 1986). O sistema aberto é realizado em caixas próprias para esse tipo de transporte, contando com aeração e água constantes, enquanto no sistema fechado, os animais são estocados em recipientes totalmente fechados e parcialmente preenchidos com água e oxigênio puro, geralmente são feitos em sacos plásticos de polietileno (Foterdar & Evans, 2011). Os sacos plásticos, podem ser acondicionados dentro de caixas de papelão ou isopor a fim de evitar danos mecânicos e manter a temperatura da água estável em relação ao ambiente externo, além de ser considerado bastante eficaz, pois é economicamente mais barato, simples e reduz o volume de água a ser utilizado (Berka, 1986).

Altos níveis de amônia podem comprometer a qualidade da água e o metabolismo dos camarões. A amônia é o composto final do catabolismo das proteínas e se encontra sob duas formas: ionizada ( $\text{NH}_4^+$  ou amônio) e não ionizada ( $\text{NH}_3$  ou amônia), cuja concentração de cada espécie vai depender da temperatura, pH e salinidade da água (Schuler *et al.* 2010). A excreção da amônia ocorre por difusão pelas brânquias, contudo em pH elevado há redução na formação de  $\text{NH}_4^+$ , devido a redução

da concentração de íons de  $H^+$  livres, resultando em retenção do  $NH_4^+$  na hemolinfa, limitando a afinidade da hemocianina (pigmento respiratório) (Chien, 1992, Racotta & Hernandez-Herrera, 2000). Quando em elevadas concentrações na água, a amônia total causa irritação, edemas e hiperplasia das lamelas branquiais, dificultando os processos de respiração e osmorregulação, gerando hipóxia tecidual, e por consequência, ativando, a via anaeróbica como rota alternativa na produção de energia, aumentando os níveis de glicose e lactato (Barbieri & Ostrensky, 2002). O grau de tolerância varia com a idade e tamanho dos camarões (Barajas *et al.* 2006).

O oxigênio dissolvido (OD) é considerado um dos fatores limitantes no transporte fechado de animais aquáticos vivos (Zhang *et al.* 2006). Normalmente nas primeiras horas, os camarões se encontram bastante agitados, em virtude do manejo inicial, havendo assim, um maior consumo de oxigênio dissolvido (Jensen *et al.* 2012). Dessa forma, os sacos plásticos necessitam serem vigorosamente lacrados após a adição do oxigênio para que ele se dissolva lentamente na água e não ocorra vazamentos. Concentrações de oxigênio abaixo de 2mg/L são consideradas letais para *L. vannamei* (Boyd, 1990). A respiração e o acúmulo dos resíduos nitrogenados podem levar a condições de hipóxia, ocasionado elevação do dióxido de carbono ( $CO_2$ ) na água e mortalidade. O dióxido de carbono diminui o pH da água e o potencial tóxico da amônia, porém pHs menores que 7 podem gerar danos nas brânquias e afetar negativamente o desempenho dos camarões, além da alta concentração de  $CO_2$  ser tóxica (Van Wyk & Scarpa, 1999, Furtado *et al.* 2011).

Uma prática comumente utilizada no transporte de crustáceos vivos é o resfriamento, realizado lentamente, de modo que o animal permaneça em um estado de “pseudo-hibernação” (Apec, 1999). O transporte dos camarões *F. brasiliensis* a 22,9°C (Souza *et al.* 2013) e *Macrobrachium rosenbergii* a 20°C (Tidwell & Coyle, 2002) demonstrou resultados positivos na qualidade da água e sobrevivência dos camarões. Jensen *et al.* 2012, observou uma acentuada redução nos níveis de oxigênio nas primeiras horas de transporte para os tratamentos com camarões *F. brasiliensis* transportados nas maiores temperaturas (25-28°C), quando comparado as menores temperaturas (16-22°C). Baixas temperaturas reduzem o metabolismo dos camarões, diminuindo o consumo de oxigênio e a excreção dos compostos de nitrogênio (Souza *et al.* 2013)

Além dos parâmetros químicos da água e das pressões mecânicas externas, o transporte de camarões pode ser afetado pelo seu comportamento agressivo, rápida movimentação, canibalismo natural e rostro afiado (Akbari *et al.* 2010). Por consequência, várias estratégias são aplicadas para diminuir o estresse e melhorar as condições do transporte. Alguns métodos usualmente utilizados são a adição de cloreto de sódio (sal – comum), gesso (sulfato de cálcio), metanosulfonato de tricaina (MS-222), TRIS (Hydroximetil Amino-Metano), eugenol, carvão ativado ou adição de microalgas na água (Barbieri & Ostrensky, 2002, Sperandio, 2004, Akbari *et al.* 2010, Souza *et al.* 2013). Porém, alguns produtos podem ser de difícil aplicação, tóxicos ou de alto custo.

A ausência de mortalidade não garante o sucesso do transporte, pois muitas vezes os animais chegam estressados e debilitados ao destino final (Jensen *et al.* 2012). É comum a utilização de diferentes protocolos para avaliar a qualidade de pós-larvas de camarão adquiridas comercialmente (Racotta *et al.* 2003). Estes, são definidos como “testes de estresse” ou “testes de sobrevivência”, onde a resistência das pós-larvas é testada através da exposição a extremas variações dos parâmetros de qualidade da água (pH, salinidade, temperatura, amônia), substâncias químicas (formalina) ou pela mensuração de características morfológicas, bioquímicas e comportamentais (pigmentação corporal, natação, composição nutricional) (Fegan, 1992; Samocha *et al.* 1998, Racotta & Palacios, 2007).

### **Carcinicultura e a utilização de anestésicos**

Nos últimos anos, houve uma expansão na produção aquícola em todo o mundo, impulsionada, principalmente, pelo crescente aumento populacional, estagnação dos estoques pesqueiros e melhor eficiência na produção e distribuição dos produtos aquáticos. Além disso, a busca por dietas mais saudáveis ocasionou o aumento do consumo de pescado, favorecendo a aquicultura como uma alternativa promissora para o fornecimento de alimentos de alto valor nutricional (FAO, 2016). Entre os anos de 2000 a 2012, a aquicultura apresentou uma taxa de crescimento médio anual de 6,2%, o qual correspondeu a um aumento na produção de 32,4 milhões para 66,6 milhões de toneladas, respectivamente. Nesse contexto, a carcinicultura representa cerca de 9,7% da produção total em volume (6,4 milhões de tonelada) e 22,4% em valor (US\$30,9

bilhões), dessa forma corresponde a maior parte do valor financeiro gerado pelo comércio de itens de origem aquática (FAO, 2016).

Com o aumento na produção e no consumo de camarões pelo mundo, há uma crescente preocupação com o bem-estar desses animais (Patterson *et al.* 2007). O ciclo produtivo do *L. vannamei* é composto de diversas etapas, as quais compreendem as fases de maturação, larvicultura, berçário e engorda. Na maturação, os reprodutores são colocados em tanques circulares, geralmente em uma proporção de 1:1 (macho: fêmea) sob condições ambientais controladas, com a finalidade de acelerar o desenvolvimento gonadal e aumentar o número de desovas, as fêmeas passam pelo método de ablação do pedúnculo ocular (Browdy & Samocha, 1985, Bray & Lawrence. 1992, Okumura, 2004). A ablação pode ser unilateral ou bilateral e ser realizada de duas formas diferentes: 1) pela retirada total ou parcial do pedúnculo ocular por cauterização, corte com tesoura ou manualmente por esmagamento do pedúnculo ocular; 2) enucleação, onde é feito um pequeno corte no globo ocular para retirada do complexo endócrino por pressão (Primavera, 1985, Browdy & Samocha, 1985). Porém, o método de ablação ocular pode comprometer o estado fisiológico das fêmeas dos camarões, gerando estresse e interferindo na qualidade das desovas e das PLs (Perazzolo *et al.* 2002, Maggioni *et al.* 2004, Sainz-Hernández *et al.* 2008). Taylor *et al.* 2004, demonstrou que a utilização da Xylocaina<sup>®</sup>, como anestésico local, durante a ablação, diminui o estresse das fêmeas, visto o comportamento normal de natação e capacidade de alimentação logo após o procedimento, e comparando com as fêmeas abladas não anestesiadas, que demoraram mais a se recuperar.

No decorrer das etapas do ciclo de produção, os camarões passam por diferentes procedimentos laboratoriais, envolvendo atividades de captura, biometrias, coleta de hemolinfa, troca de tanques e flutuações dos parâmetros químico-físicos da água, cujo manejo inadequado gera estresse, deprimindo o sistema imune e atuando como porta de entrada para a introdução de doenças (Mercier *et al.* 2009, Walker & Mohan, 2009, Zhou *et al.* 2010, Ferreira *et al.* 2011). Durante a captura podem ocorrer injúrias físicas, visto a rápida movimentação e comportamento de fuga dos camarões (Fotedar & Evans, 2011). Consequentemente, também são constantemente expostos ao ar e reimersos novamente na água, ocasionando elevação nos níveis de lactato (Barrento *et al.* 2011), HHc e glicose na hemolinfa (Lorenzon *et al.* 2005), além disso, condições de hipóxia

causam redução do THC e aumento no tempo de coagulação (Le Moullac *et al.* 1998). Essas práticas, geralmente são realizadas sem a utilização de agentes anestésicos, pois não existe legislação específica que estabeleça seu uso durante manipulação ou até mesmo para eutanásia, como ocorre com animais vertebrados.

O manejo repetitivo pode causar respostas de estresse de curta duração ou estresse crônico, prejudicando a longo prazo o metabolismo dos camarões, no entanto também pode ocorrer uma adaptação fisiológica ao agente estressor (Mercier *et al.* 2006). Dessa forma, a utilização de anestésicos ajuda a minimizar e evitar os possíveis efeitos negativos gerados pelo estresse (Coyle *et al.*, 2005, Maricchiolo & Genovese 2011). As substâncias anestésicas reduzem e tranquilizam os animais, diminuindo os custos metabólicos no transporte e melhorando sua manipulação (Akbari *et al.* 2010).

O método de avaliação anestésica consiste em determinar os tempos de indução para sedação, anestesia e recuperação, além do comportamento, natação e reação a estímulos externos (Ross & Ross, 2008). O estágio de sedação consiste na diminuição da sensibilidade, levando o animal a um estado de tranquilidade, enquanto a anestesia é caracterizada pela imobilização, inconsciência e analgesia (Zhall *et al.* 2012). Logo, o efeito sedativo ou anestésico vai estar relacionado com a dose anestésica empregada, o tempo de exposição, bem como, da fisiologia do animal. Segundo Parodi *et. al.* (2012), para camarões são definidos dois estágios de anestesia (Tabela 1):

Tabela 1: Estágios de anestesia em camarões:

Estágio	Descrição	Resposta Comportamental
1	Sedação	Perda parcial de equilíbrio e presença de resposta a estímulos externos
2	Anestesia	Perda total do equilíbrio, mas sem resposta a estímulos externos

Um anestésico considerado ideal é aquele que proporciona rápidos tempos de indução (3 a 5 min) e recuperação (10 min ou menos), fácil aplicação e que seja eficaz e seguro, sem causar danos para o aplicador e ao animal exposto (Tsantilas *et al.*, 2006; Ross & Ross, 2008). Igualmente, é importante avaliar o custo e a facilidade de obtenção

do anestésico, principalmente para facilitar a sua obtenção junto ao produtor quando necessário.

A resposta dos anestésicos varia de acordo com a concentração empregada, fatores ambientais e características biológicas dos animais (Ross & Ross, 2008). Soltani *et al.* 2004, demonstrou que o aumento da salinidade não influenciou diretamente os tempos de indução para *P. semisulcatus*, contudo, a ação combinada da salinidade mais temperatura ou da concentração mais salinidade obteve os maiores e menores efeitos nos tempos de indução e recuperação, respectivamente. Dentre as características biológicas, espécies diferentes, tamanho, peso, hábito alimentar, genética, maturidade sexual e estado de saúde também influenciam na escolha do anestésico (Zahl *et al.* 2012).

Um dos anestésicos sintéticos mais utilizados na aquicultura no Brasil, é a benzocaína, por ser um produto de baixo custo, seguro e de fácil obtenção no mercado (Gomes *et al.* 2001). Pelo fato de ser pouco solúvel em água, é necessário que antes da sua aplicação, seja primeiramente dissolvido em etanol ou acetona (Neiffer & Stamper, 2009). Em peixes, é eliminado dos tecidos 24h após sua exposição, no entanto, segundo a FDA é indicado 21 dias de depuração antes do consumo dos animais anestesiados com benzocaína (Ross & Ross, 2008). O mecanismo de ação da benzocaína atua bloqueando os canais de sódio, reduzindo o potencial de ação e limitando os impulsos nervosos (Zahl *et al.* 2012). A benzocaína foi considerada um bom anestésico para juvenis de pampo *Trachinotus marginatus* (Okamoto *et al.* 2009), em contrapartida elevou os níveis de glicose e lactato em juvenis de tambaqui *Colossoma macropomum* (Gomes *et al.* 2001).

Todavia, os anestésicos podem ter efeito antagonista, intensificando a liberação de catecolaminas e induzindo ao estresse, como é o caso da benzocaína e do MS – 222 que aumentaram os níveis de cortisol em *Salmo salar* e *Hippoglossus hippoglossus*, respectivamente (Zahl *et al.* 2010). Também podem se tornar prejudiciais quando altas doses são associadas a prolongados tempos de exposição (Inoue *et al.* 2011). Dessa maneira, torna – se fundamental primeiramente determinar concentrações que sejam apropriadas para a espécie estudada e avaliar o potencial de novas substâncias

anestésicas, como por exemplo, os óleos essenciais e seus compostos isolados (Silva *et al.* 2013).

### **Óleos essenciais como anestésicos**

Os óleos essenciais (OE) são compostos naturais formados por uma complexa mistura de substâncias voláteis de baixo peso molecular, são metabólitos secundários de plantas aromáticas, que podem ser sintetizados em diferentes órgãos da planta (folhas, flores, caules e frutos). Apresentam coloração variada e são imiscíveis ou parcialmente miscíveis em água. São formados principalmente por terpenóides (constituintes majoritários) e compostos aromáticos (Bakkali *et al.* 2008). Os OEs são mais biodegradáveis que substâncias sintéticas e geralmente, apresentam baixa toxicidade em mamíferos (Figueiredo *et al.* 2008). São largamente empregados na indústria farmacêutica, aromática e de alimentos, devido as diversas propriedades sedativas, antioxidantes, anti-inflamatórias, antifúngicas e antibacterianas (Hammer, 1999, Dorman & Deans, 2000, Silva *et al.* 2009).

A composição química dos OEs está relacionada com a genética da planta, o órgão vegetal, fase de desenvolvimento e o ambiente de cultivo. A temperatura, o vento, a luminosidade, a chuva, a composição do solo, o ataque de herbívoros, a sazonalidade, o horário da coleta e o método de extração exercem influência direta no rendimento e constituição química dos OEs, podendo os fatores, atuarem em conjunto ou isoladamente (Figueiredo, 2008, Silva *et al.* 2012a). Entretanto, a maioria desses fatores é estudado principalmente, sobre metabólitos secundários de regiões temperadas e de interesse comercial, cujos ainda sofrem influência antrópica direta, quando comparado a espécies selvagens (Gobbo-Neto & Lopes, 2007).

Os principais métodos de extração são por hidrodestilação, arraste a vapor, expressão ou extração com solventes orgânicos voláteis, variando conforme a finalidade com o qual OE será empregado, pois afetam o número e o perfil químico das moléculas que compõem os OEs (Simões, 2004, Bakkalli *et al.* 2008). Diferentes óleos podem ser formados pelos mesmos constituintes, no entanto a porcentagem de cada composto é variável, caracterizando biologicamente o óleo, cuja atividade pode ser atribuída a um

único composto ou pelo sinergismo, antagonismo ou efeitos aditivos entre os diferentes constituintes (Smith *et al.* 2001, Trombetta *et al.* 2005, Edris, 2007).

Existem muitos estudos que relatam o emprego de substâncias anestésicas de origem vegetal para peixes, como por exemplo: *Ocimum gratissimum* (Silva *et al.* 2012b, Ribeiro *et al.* 2016), *Aloysia gratissima* (Benovit *et al.* 2015), *Aloysia triphylla* (Gressler *et al.* 2014) e seus compostos isolados, eugenol (Roubach *et al.* 2005), mentol (Façanha & Gomes, 2005, Simões & Gomes, 2009) e linalol (Heldwein *et al.* 2014). Apesar de ainda escassos, alguns trabalhos também demonstram o potencial anestésico dos óleos essenciais em camarões, como é o caso do óleo de cravo (Coyle *et al.* 2005, Matulovic *et al.* 2014), *Aloysia triphylla* (Parodi *et al.* 2012), *Lippia alba* (Parodi *et al.* 2012) e do composto isolado eugenol (Saydmohammed & Pal, 2009, Akbari *et al.* 2010).

O mentol é o principal constituinte do óleo essencial extraído a partir da planta *Menta* spp., popularmente conhecida como hortelã (Matos, 2000). Essa substância apresenta propriedades anestésicas, antiespasmódicas e anti-inflamatórias, possuindo grande importância econômica na indústria de alimentos e farmacêutica, sendo utilizado como anestésico local (Galeotti *et al.* 2002). É facilmente encontrado em farmácias de manipulação, seguro ao aplicador e viável economicamente. É um dos poucos anestésicos utilizados amplamente em invertebrados marinhos, principalmente para moluscos (Ruppert & Barnes, 1996, Ross & Ross, 2008). De acordo com Saydmohammed (2009), o mentol é parcialmente miscível em água formando uma espuma na superfície, o que pode prejudicar a difusão do oxigênio na água.

As espécies cítricas formam o grupo de frutos mais cultivados no mundo, possuindo um alto valor comercial. A maior parte da sua produção é voltada para o consumo “*in natura*” ou para fabricação de sucos. Além disso, apresentam importância nutricional e demonstram efeitos analgésicos, antioxidantes, anti-inflamatórios, antivirais e antialérgicas, conferindo – lhe grande importância farmacológica na elaboração de medicamentos (Palazzolo *et al.* 2013). O gênero *Citrus* pertence à Rutaceae e compreende cerca de 70 espécies de arbustos e subarbustos encontrados em diferentes regiões tropicais e subtropicais de distribuição menor (Kuster *et al.* 2003; Melo 2004). Os OEs obtidos de plantas do gênero, geralmente apresentam predomínio

de monoterpenoides (97%) seguido de sesquiterpenoides hidrocarbonetos (1.9-2.2%). O limoneno é o constituinte majoritário dos óleos cítricos, alcançando cerca de 68-98% na composição da laranja e 45-76% no limão (Tu *et al.* 2002).

O óleo de limão siciliano (*Citrus lemon*) é considerado um potente antioxidante natural (Del Rio *et al.* 2004, Gonzalez-Molina *et al.* 2010). A administração crônica por via oral do OE de *C. lemon* não demonstrou efeitos tóxicos sobre parâmetros bioquímicos e hematológicos em camundongos (Campelo *et al.* 2013). O óleo essencial de laranja doce (*Citrus sinensis*) é amplamente utilizado em aromaterapia em virtude dos seus efeitos tranquilizantes. Por ser uma substância reconhecida pela FDA, é crescente o interesse na sua utilização como agente sedativo, contudo ainda não existem trabalhos envolvendo anestesia de animais aquáticos, especialmente com camarões (Agra *et al.* 2007).

O *Eucalyptus globulus*, (Mirtaceae), popularmente conhecido como eucalipto, é uma espécie encontrada em regiões tropicais, cujo OEs das folhas é rico em 1,8-cineol e -pineno (Ghisalberti, 1996, Leung & Foster, 1996). Demonstra diversas atividades terapêuticas, de sedação, antiespasmódica, estimulante e secretolítica (Silva *et al.* 2003). É uma árvore de rápido crescimento, sendo bastante utilizada pela indústria madeireira e na fabricação de papel (Souza & Lorenzi, 2008). Além disso, óleo essencial de *E. globulus* pode ser empregado na preservação de alimentos, como peixes, contra atividade microbiana, demonstrando segurança e ausência de toxicidade (Ramezani *et al.* 2002). O OE de eucalipto é classificado como seguro para uso, segundo a FDA.

O Brasil, ainda não dispõe de uma legislação específica que regule a utilização de anestésicos na aquicultura, seguindo assim, as diretrizes estabelecidas pela Food and Drug Administration (FDA), que é um órgão governamental americano responsável pelo controle e aprovação de alimentos, cosméticos, medicamentos, entre outros produtos, comercializados. Dentro da pesquisa acadêmica, existem normas estabelecidas pelo Conselho Nacional de Experimentação Animal (CONCEA) envolvendo o uso de anestésicos durante procedimentos de eutanásia, principalmente para vertebrados, pois a legislação brasileira define como “animais” somente os indivíduos do Filo Chordata, subfilo Vertebrata. Atualmente, algumas universidades passaram a incluir invertebrados em suas regras, visto o grande número de trabalhos

desenvolvidos com esses seres. Alguns países, como Reino Unido, Portugal Austrália e Nova Zelândia passaram a incluir decápodes e cefalópodes em sua legislação de proteção e pesquisa (Mugrabi Oliveira & Goldim, 2014, Lira *et al.* 2016). Portanto, torna – se cada vez mais necessário o desenvolvimento de estudos com substâncias anestésicas e protocolos de manipulação que garantam o bem-estar e a ética na manipulação de animais vertebrados, como camarões. Dessa forma, o presente trabalho procurou avaliar o potencial sedativo de diferentes substâncias como anestésicos seguros para utilização no manejo e transporte do camarão *Litopenaeus vannamei*.

## OBJETIVO GERAL

Avaliar o potencial sedativo e anestésico de diferentes substâncias para utilização no manejo e transporte do camarão branco *Litopenaeus vannamei*.

## OBJETIVOS ESPECIFICOS

) Determinar os tempos de indução para sedação, anestesia e recuperação para as concentrações de 300, 400, 500mg L<sup>-1</sup> de benzocaína.

) Determinar os tempos de indução para sedação, anestesia e recuperação para as concentrações de 600, 800, 1000mg L<sup>-1</sup> de mentol.

) Determinar os tempos de indução para sedação, anestesia e recuperação para diferentes concentrações dos óleos essenciais de *C. lemon* (84, 168, 252mg L<sup>-1</sup>), *Citrus sinensis* (84, 168, 252mg L<sup>-1</sup>) e *Eucalyptus globulus* (450, 450, 900mg L<sup>-1</sup>).

) Avaliar o potencial das concentrações de 252mg L<sup>-1</sup> de *C. lemon* e 900mg L<sup>-1</sup> de *E. globulus* para uso em procedimentos de manejo e sua influência na sobrevivência de *L. vannamei* submetido a duas diferentes salinidades (29 e 2ppm).

) Estimar uma concentração ideal de *E. globulus* para transporte do camarão branco e analisar sua sobrevivência após 24h do transporte.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABCC, 2016. Associação Brasileira dos Criadores de Camarão. Histórico da carcinicultura no Brasil. Disponível em: <http://www.abccam.com.br/historico2.html> . Acessado em 12/02/2016.

AGRA, M.F., FREITAS, P.D.F., BARBOSA-FILHO, J.M. 2007. Synopsis of the plants known a medicinal and poisonous in Northeast of Brazil. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 17:114-40.

AKBARI, S., KHOSHOD, M.J., RAJAIAN, H., AFSHARNASAB, M., 2010. The Use of Eugenol as an anesthetic in Transportation of with Indian Shrimp (*Fenneropenaeus indicus*) Post Larvae. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 10:423-429.

ÁLVAREZ, A.L., RACOTAA, I.S., ARJONA, O., PALACIOS, E. 2004. Salinity stress test as a predictor of survival during growout in pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Aquaculture*, 237(1):237-249.

AMPARYUP, P., CHAROENSAPSRI, W., TASSANAKAJON, A. 2013. Prophenoloxidase system and its role in shrimp immune responses against major pathogens. *Fish & Shellfish Immunology*, 34:990-1001.

APARÍCIO-SIMÓN, B., PIÑÓN, M., RACOTTA, R., RACOTTA, I. S. 2010. Neuroendocrine and metabolic responses of Pacific whiteleg shrimp *Litopenaeus vannamei* exposed to acute handling stress. *Aquaculture*, 298(3):308-314.

APEC Fisheries Working Group. 1999. Air shipment of Live and Fresh Fish and Seafood Guidelines. First Coastal Corporation, Singapore.

AQUACOP, L.E., MOULLAC, G., DAMEZ, D. 1991. Modélisation de la résistance aux chocs de salinité des postlarves de *Penaeus vannamei*. *Aquatic Living Resources*, 4:169-173.

ARAÚJO, D.C. 2003. Avaliação do programa nacional de desenvolvimento da aquicultura: o caso da carcinicultura marinha no Nordeste. Recife. Universidade Federal de Pernambuco. Dissertação de Mestrado em Gestão Pública para o desenvolvimento do Nordeste. 139p.

BARBIERI, R.C.J., OSTRENSKY, A. 2002. Camarões Marinhos: engorda. Vol. 2. Aprenda Fácil Editora. Viçosa, MG. 370p.

BAKKALI, F., AVERBECK, S., AVERBECK, D., IDAOMAR, M. 2008. Biological effects of essential oils – A review. *Food and Chemical Toxicology*, 46:446-47.

- BARAJAS, F.M., VILLEGAS, R.S., CLARK, G.P., MORENO, B.L. 2006. *Litopenaeus Vannamei* (Boone) post larval survival related to age, temperature, pH and ammonium concentration. *Aquaculture Research*, 37:492-499.
- BARBIERI JÚNIOR, R. C., OSTRENSKY NETO, A. 2002. Camarões marinhos: engorda. Viçosa: Aprenda Fácil, 2.
- BARR, S., LAMING, P.R., DICK, J.T.A., ELWOOD, R.W. 2008. Nociception or pain in a decapod crustacean? *Animal Behavior*, 75, 745-751:295-298.
- BATESON, P. 1991. Assessment of pain in animals. *Animal Behaviour*, 42:827-839.
- BENOVIT, S.C., GRESSLER, L.T., SULVA, L.L., GARCIA, L., OKAMOTO, M.H., SANTOS PEDRON, J., BALDISSEROTTO, B. 2012. Anesthesia and transport of Brazilian flounder, *Paralichthys orbignyanus*, with essential oils of *Aloysia gratissima* and *Ocimum gratissimum*. *Journal of the World Aquaculture Society*, 43(6), 896-900.
- BERKA, R. 1986. The transport of live fish: a review. EIFAC technical papers 48, FAO, Rome.
- BOYD, C.E. 1990. Water quality in ponds for aquaculture. Auburn University, Auburn, 482p.
- BRAY, W.A., LAWRENCE, A.L. 1992. Reproduction of *Penaeus* species in captivity. In: Fast, A.W. and Lester, J.L. (Eds.), *Marine Shrimp Culture: Principle and Practices*. Elsevier Science Publisher B.V., Amsterdam, The Netherlands, 93-170.
- BARRENTO, S., MARQUES, A., VAZ-PIRES, P., NUNES, M. L. 2011. *Cancer pagurus* (Linnaeus, 1758) physiological responses to simulated live transport: influence of temperature, air exposure and AQUI-S®. *Journal of Thermal Biology*, 36(2):128-137.
- BROOM, D.M. 2001. Evolution of pain. *Jaams Diergeneeskundig Tijdschrift*, 70:17-21.
- BROOM, D.M. 2007. Cognitive ability and sentience: which aquatic animals should be protected? *Diseases of Aquatic Animal*, 75:99-108.
- BROWDY, C.L., SAMOCHA, T.M. 1985. The effect of eyestalk ablation on spawning, molting and mating of *Penaeus semisulcatus* de Haan. *Aquaculture*, 49:19-29.
- BRUSCA, R.C., BRUSCA, G.J. 2007. *Invertebrados*. 2.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.

BURT, S. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *International Journal of Food Microbiology*, 94:223-53.

CAMPELO, L.M.L., SÁ, C.G., FEITOSA, C.M., SOUSA, G.F., FREITAS, R. M. 2013. Chemical constituents and toxicological studies of the essential oil extracted from *Citrus limon* Burn (Rutaceae). *Revista Brasileira de Plantas Medicinai*s, 15(4):708-716.

CASTILLE, F.L., LAWRENCE, A.L. 1981. The effect of salinity on the osmotic, sodium and chloride concentrations in the hemolymph of euryhaline shrimp of the genus *Penaeus*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, 68:75-80.

CHIEN, Y.H. 1992. Water quality requirements and management for marine shrimp culture. In: *Proceedings of the Special Session on Shrimp Farming* (ed. by J. Wyban). World Aquaculture Society, Baton Rouge, LA, USA, 144-153.

COSTA, E.F., SAMPAIO, Y. 2004. Geração de empregos diretos e indiretos na cadeia produtiva do camarão marinho cultivado. *Revista Economia Aplicada*, São Paulo, 1-19.

COYLE, S.D., DASGUPTA, S., TIDWELL, J.H., BEAVERS, T., BRIGHT, L.A., YASHARIAN, D.K. 2005. Comparative efficacy of anesthetics for the freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*. *Journal of the World Aquaculture Society*, 36:282–290.

DALL, W., HILL, B.J., ROTH LISBERG, P.C., SHARPLES, D.J. 1990. The biology of the Penaeidae. *Advances in Marine Biology*, 27p.

DAVIS, D. A., SAMOCHA, T.M., BOYD, C. E. 2004. Acclimating Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, to inland, low-salinity waters. Stoneville, Mississippi: Southern Regional Aquaculture Center.

DAWKINS, MS. 2012. *Why animals matter. Animal consciousness, animal welfare, and human well-being*. Oxford University Press, Oxford, U.K.

DELLA ROCCA, G. 2015. Pain and suffering in invertebrates: an insight on cephalopods. *American Journal of Animal and Veterinary Sciences*, 10(2):77.

DEL RIO, J.A., FUSTER., M.D., GOMEZ, P., PORRAS, A., GÁRCIA-LIDON, A., ORTUNÓ, A. 2004. *Citrus limon*: a source of flavonoids of pharmaceutical interest. *Food Chemistry*, 84:457–461.

DORMAN, H.J.D., DEANS, S.G. 2000. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology*, 88:308-316.

EDRIS, A.E. 2007. Pharmaceutical and therapeutic potentials of essential oils and their individual volatile constituents: a review. *Phytotherapy Research*, 21:308-323.

ELWOOD, R.W., APPEL, M. 2009. Pain experience in hermit crabs? *Animal Behavioral*, 77:1243-46.

ELWOOD, R.W. 2011. Pain and suffering in invertebrates? *Ilar Journal*, 52:175-184.

ELWOOD, R.W. 2012. Evidence for pain in decapod crustaceans. *Animal Welfare*, 21:23-27.

EISEMANN, C.H., JORGENSEN, W.K., MERRITT, D.J., RICE, M.J., CRIBB, B.W., WEBB, P.D., ZALUCKI, M.P. 1984. Do insects feel pain? A biological view. *Experientia*, 40:164-7.

FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations (2016). *The State of World Fisheries and Aquaculture*. Rome, Italy. Disponível em: <http://www.fao.org>.

FAÇANHA, M. F., GOMES L.D.C. 2005. Efficacy of menthol as an anesthetic for tambaqui (*Colossoma macropomum*, Characiformes: Characidae). *Acta Amazonica*, 35:71-75.

FEGAN, D.F., 1992. Recent developments and issues in the penaeid shrimp hatchery industry. In: Wyban, J. (Ed.), *Proceedings of the Special Session on Shrimp Farming*. World Aquaculture Society, Baton Rouge, LA, USA, pp 55–70

FERNANDEZ-DUQUE. E., VALEGGIA, C, MALDONADO, H. 1992. Multitrial inhibitory avoidance learning in the crab *Chasmagnathus*. *Behavioral and Neural Biology*, 57:189-197.

FERREIRA, N.C., BONETTI, C., SEIFFERT, W.Q. 2011. Hydrological and water quality indices as management tools in marine shrimp culture. *Aquaculture*, 318:425-433.

FIGUEIREDO, A.C. 2008. Factors affecting secondary metabolite production in plants: volatile components and essential oils. *Flavour and Fragrance Journal*, 23:213-26.

FINGERMAN, M. 1997. Crustacean endocrinology: a retrospective, prospective, and introspective. *Physiological Zoology*, 257-269.

FOTEDAR, S., EVANS, L. 2011. Health management during handling and live transport of crustaceans: a review. *Journal of Invertebrate Pathology*, 106:143–152.

FRANZ, C.M. 2010. Essential oil research: past, present and future. *Flavour Fragrance Journal*, 25, 112-113:1099-1026.

FREIRE, C.A., ONKEN, H., MCNAMARA, J.C. 2008. A structure–function analysis of ion transport in crustacean gills and excretory organs. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 151:272-304.

FURTADO, P.S., POERSCH, L.H., WASIELESKY, W.J. 2011. Effect of calcium hydroxide, carbonate and sodium bicarbonate on water quality and zootechnical performance of shrimp *Litopenaeus vannamei* reared in Bio-flocs technology (BFT) systems. *Aquaculture*, 321(1):130-135.

GALEOTTI, N., DI CESARE MANNELLI, L., MAZZANTI, G., BARTOLINI, A., GHELARDINI, C. 2002 Menthol: a natural analgesic compound. *Neuroscience Letters*, 322:145–148.

GENTLE, M. 2011. Pain in poultry. *Applied Animal Behaviour Science*, 135:252-258.

GHISALBERTI, E.L. 1996. Bioactive acylphloroglucinol derivatives from *Eucalyptus* species. *Phytochemistry*, 41:7-22.

GIROTTO, M.V.F. 2010. Efeitos da Amônia sobre Juvenis de *Litopenaeus schmitti* (BURKENROAD,1936) e de *Litopenaeus vannamei* (BOONE,1931): Excreção e Toxicidade. Curitiba. Universidade Federal do Paraná. Dissertação de Mestrado em Ciências Veterinárias, 79p.

GOBBO-NETO, L., LOPES, N.P. 2007. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. *Química Nova*, 30(2):374.

GONZALEZ-MOLINA, E., DOMINGUEZ-PERLES, R., MORENO, D.A, GARCIA-VIGUERA, C. 2010. Natural bioactive compounds of *Citrus limon* for food and health. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 51:327–345.

GRESSLER, L.T., RIFFEL, A.P.K., PARODI, T.V., SACCOL, E.M.H., KOAKOSKI, G., COSTA, S.T., PAVANATO, M.A., HEINZMANN, B.M., CARON, B., SCHMIDT, D., LLESUY, S.F., BARCELLOS, L.J.G, BALISSEROTTO, B. 2014. Silver catfish *Rhamdia quelen* immersion anaesthesia with essential oil of *Aloysia triphylla* (L'Hérit) Britton or tricaine methanesulfonate: effect on stress response and antioxidant status. *Aquaculture Research*, 45:1061-1072.

HAMMER, K.A., CARSON, C.F., RILEY, T.V. 1999. Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. *Journal of Applied Microbiology*, 86(6):985-90.

HELDWEIN, C.G., SILVA, L.L., GAI, E.Z., ROMAN, C., PARODI, T.V., BURGER, M.E., BALISSEROTTO, B., FLORES, E.M.M., HEINZMANN, B.M. 2014. S-(+)-Linalool from *Lippia alba*: sedative and anesthetic for silver catfish, *Rhamdia quelen*. *Veterinary Anaesthesia and Analgesia*, 41:621-629.

HENNIG, O.L., ANDREATTA, E.R. 1998. Effect of temperature in an intensive nursery system for *Penaeus paulensis* (Pérez Farfante, 1967). *Aquaculture*, 164:167–172.

HOLTHUIS, L. B. 1980. FAO species catalogue. Volume 1-Shrimps and prawns of the world. An annotated catalogue of species of interest to fisheries, 125p.

HUBERMAN, A., Shrimp Endocrinology. A review. 2000. *Aquaculture*. 191:191-208.

INOUE, L.A.K.A., BOIJINK, C.L., RIBEIRO, P.T., SILVA, A. D., AFFONSO, E.G. 2011. Avaliação de respostas metabólicas do tambaqui exposto ao eugenol em banhos anestésicos. *Acta Amazonica*, 41(2):327-332.

JENSEN, LV. 2012. Produção e transporte do camarão – rosa *Farfantepenaeus brasiliensis* para a pesca amadora: uma alternativa sustentável? São Carlos. Universidade Federal de São Carlos. Dissertação de Mestrado em Ecologia e Recursos Naturais, 146p.

JENSEN, L. V., FURTADO, P. S., FUGIMURA, M. M. S., GARCIA, L. O., POERSCH, L. H., VERANI, J. R., WASIELESKY, W. 2014. The effect of stocking density on the transport of pink shrimp *Farfantepenaeus brasiliensis* (Crustacea: Decapoda), as live bait for sport fishing in Brazil. *Latin American Journal of Aquatic Research*, 42(1):204.

JOHANSSON, M.W., SÖDERHÄLL, K. 1989. A cell adhesion factor from crayfish haemocytes has degranulating activity towards crayfish granular cells. *Insect Biochemistry*, 19:183-190.

KUSTER, R.M., ROCHA, L.M. 2003. Cumarinas, cromonas e xantonas. In: SIMÕES, C.M.O et al. *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 5.ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS/Editora da UFSC, 537-56.

KRUMMENAUER, D., PEIXOTO, S., CAVALLI, R.O., POERSCH, LH. WASIELESKY, W. 2011. Superintensive culture of white shrimp *Litopenaeus*

*vannamei* in a biofloc technology system in southern Brazil at different stocking densities. *Journal of the World Aquaculture Society*, 42: 726-733.

LEUNG, A. Y., FOSTER, S. 1996, *Encyclopedia of Common Natural Ingredients Used in Food and Cosmetics*, pub.

LEWBART, G.A., MOSLEY, C. 2012. Clinical anesthesia and analgesia in invertebrate. *Journal of Exotic Pet Medicine*, 21(1):59-70.

LIN, Y.C., CHEN, J.C., 2001. Acute toxicity of ammonia on *Litopenaeus vannamei* Boone juveniles at different salinity levels. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 259:109–119.

LIU, H., TAN, B., YANG, J., LIN, Y., CHI, S., DONG, X., YANG, Q. 2014. Effect of various Na/K ratios Clinical anesthesia and analgesia in invertebrates. in low-salinity well water on growth performance and physiological response of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Chinese Journal of Oceanology and Limnology*, 32:991-999.

LE MOULLAC, G., SOYEZ, C., SAULNIER, D., ANSQUER, D., AVARRE, J. C., LEVY, P. 1998. Effect of hypoxic stress on the immune response and the resistance to vibriosis of the shrimp *Penaeus stylirostris*. *Fish & Shellfish Immunology*, 8(8):621-629.

LE MOULLAC, G., HAFFNER, P. 2000. Environmental factors affecting immune responses in Crustacea. *Aquaculture*, 191:121-131.

LIRA, M.G.S., CANTANHÊDE, L.G., MIRANDA, G.S., NETA, R.N.F.C. 2016. Bioética e uso de animais invertebrados em pesquisa: Uma abordagem histórico-legislativa. *Investigação*. 15(1).

LORENZON, S., EDOMI, P., GIULIANINI, P.G., METTULIO, R., FERRERO, E.A. 2005. Role of biogenic amines and CHH in the crustacean hyperglycemic stress response. *Journal of Experimental Biology*, 208:3341–3347.

LORENZON, S., GIULLIANINI, P. G., MARTINIS, M., FERRERO, E. A. 2007. Stress effect of different temperatures and air exposure during transport on physiological profiles in the American lobster *Homarus americanus*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 147(1):94-102.

MAGEE, B., ELWOOD, R.W. 2013. Shock avoidance by discrimination learning in the shore crab (*Carcinus maenas*) is consistent with a key criterion for pain. *Journal of Experimental Biology*, 216:353-358.

MAGGIONI, D.S., ANDREATTA, E.R., HERMES, E.M., BARRACCO, M.A. 2004. Evaluation of some hemato-immunological parameters in female shrimp *Litopenaeus vannamei* submitted to unilateral eyestalk ablation in association with a diet supplemented with superdoses of ascorbic acid as a form of immunostimulation. *Aquaculture*, 241(1):501-515.

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

MARTÍNEZ, F.S. 2007. Sistema inmune em camarones. Asistencia Técnica Nicovita - ALICORP SAA. Boletín NICOVITA. Julio - septiembre. Edición Tumpis.

MATOS, F.J.A. 2000. Plantas medicinais: guia de seleção e emprego de plantas usadas em fitoterapia no Nordeste do Brasil. 2ed. Fortaleza: Imprensa Universitária-UFC. 344p.

MATULOVIC, F.M. 2014. Avaliação de óleos essenciais como anestésico em camarões marinhos, *Litopenaeus schmitti* e *Farfantepenaeus brasiliensis*. Seropédica, Rio de Janeiro. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Dissertação de Mestrado em Zootecnia, 60p.

MCGRAW, J.W., DAVIS, D.A., TEICHERT-CODDINGTO, D., ROUSE, D.B. 2002. Acclimation of *Litopenaeus vannamei* postlarvae to low salinity: influence of age, salinity endpoint, and rate of salinity reduction. *Journal of the World Aquaculture Society*, 33:78–84.

MCGRAW, W.J., SCARPA, J. 2003. Minimum environmental potassium for survival of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone) in freshwater. *Journal of Shellfish Research*, 22:263–267.

MELO, M.F.F.; ZICKEL, C.S. 2004. Os gêneros *Zanthoxylum* L. e *Esenbeckia* Kunth (Rutaceae) no Estado de Pernambuco, Brasil. *Acta Botânica Brasileira*. 18:73-90.

MERCIER, L, PALACIOS, E., E., CAMPA-CÓRDOVA, Á. I., TOVAR-RAMIREZ, D., HERNÁNDEZ-HERRERA, R., RACOTTA, I. S. 2006. Metabolic and immune responses in Pacific whiteleg shrimp *Litopenaeus vannamei* exposed to a repeated handling stress. *Aquaculture*, 258(1):633-640.

MERCIER, L., RACOTTA, I. S., YEPIZ-PLASCENCIA, G., MUHLIA-ALMAZÁN, A., CIVERA, R., QUINONES-ARREOLA, M. F., PALACIOS, E. 2009. Effect of diets containing different levels of highly unsaturated fatty acids on physiological and immune responses in Pacific whiteleg shrimp

*Litopenaeus vannamei* (Boone) exposed to handling stress. *Aquaculture Research*, 40(16):1849-1863.

MOLES, P., BUNGE, J. 2002. Shrimp farming in Brazil: an industry overview. Roma: FAO/WWF/NACA, 26 p.

MORENO, F., E., CONZÁLEZ, SALAS, R., RICO GUTIÉRREZ, R. 2013. Sistema inmune de los camarones. *Revista AquaTIC*, 38:68-84.

MPA – Ministério da Pesca e Aquicultura. 2014. Boletim Estatístico da Pesca e Aquicultura. Disponível em: <http://www.mpa.gov.br/files/docs/Publicidade/Cartilha-Balan%C3%A7o-2013-Minist%C3%A9rio-Pesca-Aquicultura.pdf>.

MUGRABI OLIVEIRA, E., GOLDIM, J.R. 2014. Legislação de proteção animal para fins científicos e a não inclusão dos invertebrados—análise bioética. *Revista Bioética*, 22:1.

NATORI, M.M., SUSSEL, F.R., SANTOS, E. D., PREVIERO, T.D.C., VIEGAS, E. M. M., GAMEIRO, A.H. 2011. Desenvolvimento da carcinicultura marinha no Brasil e no mundo: avanços tecnológicos e desafios. *Informações Econômicas*, 41(2):61-73.

NEIFFER, D.L., STAMPER, M.A. 2009. Fish sedation, anesthesia, analgesia, and euthanasia: considerations, methods, and types of drugs. *ILAR journal*, 50:343-360.

OKAMOTO, M.H., TESSER, M.B., LOUZADA, L.R., SANTOS, R.A., SAMPAIO, L.A. 2009. Benzocaína e eugenol como anestésicos para juvenis do pampo *Trachinotus marginatus*. *Ciência Rural*, Santa Maria, 39(3):866-870.

OKUMURA, T. 2004. Perspectives on hormonal manipulation of shrimp reproduction. *Japan Agricultural Research Quarterly: JARQ*, 38(1):49-54.

PALAZZOLO, E., LAUDICINA, V.A., GERMANÀ, M.A. 2013. Current and potential use of citrus essential oils. *Current Organic Chemistry*, 17(24), 3042-3049.

PAN, L.Q., LIU, H.Y., ZHAO, Q. 2014. Effect of salinity on the biosynthesis of amines in *Litopenaeus vannamei* and the expression of gill related ion transporter genes, *Journal of Ocean University China*, 13:453-459.

PARODI, T.V., CUNHA, M.A., HELDWEIN C.G., SOUZA, D.M., MARTINS, A.C., GARCIA, L.O., WASIELESKY, W., MONSERRAT, J.M., SCHMIDT, D., CARON, B.O., HEINZMANN, B., BALDISSEROTO, B. 2012. The anesthetic efficacy of eugenol and the essential oils of *Lippia alba* and *Aloysia triphylla* in post-larvae and sub-adults of *Litopenaeus vannamei* (Crustacea, Penaeidae). *Comparative Biochemistry and Physiology Part C*, 155:462–468.

PATTERSON, L., DICK, J.T.A., ELWOOD, R.W. 2007. Physiological stress responses in the edible crab, *Cancer pagurus*, to the fishery practice of de-clawing. *Marine Biology*, 152:265–272.

PEIXOTO JR, S., WASIELESKY JR, W., LOUZADA JR, L. 2003. Comparative analysis of pink shrimp, *Farfantepenaeus paulensis*, and Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, culture in extreme southern Brazil. *Journal of Applied Aquaculture*, 14(1-2):101-111.

PERAZZOLO, L.M., LORENZINI, D.M., DAFFRE, S., BARRACO, M.A. 2005. Purification and partial characterization of the plasma clotting protein from the pink shrimp *Farfantepenaeus paulensis*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 142:302–307.

PEREZ-VELAZQUEZ, M., DAVIS, D. A., ROY, L.A., GONZÁLEZ-FÉLIX, M. L. 2012. Effects of water temperature and Na<sup>+</sup>: K<sup>+</sup> ratio on physiological and production parameters of *Litopenaeus vannamei* reared in low salinity water. *Aquaculture*, 342:13-17.

PONCE-PALAFIX, J., MARTINEZ-PALACIOS, C.A., ROSS, L.G. 1997. The effects of salinity and temperature on the growth and survival rates of juvenile white shrimp, *Penaeus vannamei*, Boone, 1931. *Aquaculture*, 57:107-115.

PRIMAVERA, J.H. 1985. A review of maturation and reproduction in closed thelycum penaeids.

PRYMACZOK, N.C., PASQUALINO, V.M., VIAU, V.E., RODRIGUEZ, E.M., MEDESANI, D.A. 2016. Involvement of the crustacean hyperglycemic hormone (CHH) in the physiological compensation of the freshwater crayfish *Cherax quadricarinatus* to low temperature and high salinity stress. *Journal of Comparative Physiology B*, 186(2):181-191.

QIU, J., WANG, W-N., WANG, L.-J., WANG, Y.-F., LIU, A.-L. 2011. Oxidative stress, DNA damage and osmolality in the Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei* exposed to acute low temperature stress. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 154(1):36–41.

RACOTTA, I.S, HERNÁNDEZ-HERRERA, R. 2000. Metabolic responses of the white shrimp, *Penaeus vannamei*, to ambient ammonia. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 125:437–443.

RACOTTA, I.S., PALACIOS, E., IBARRA, A.M. 2003. Shrimp larval quality in relation to broodstock condition. *Aquaculture*, 227:107-130.

RACOTTA, I.S., PALACIOS, E. 2007. Salinity stress test and its relation to future performance and different physiological responses in shrimp postlarvae. *Aquaculture*, 268(1):123-135.

RAMEZANI, H., SINGH, H P., BATISH, D. R., KOHLI, R K. 2002. Antifungal activity of the volatile oil of *Eucalyptus citriodora*. *Fitoterapia*, 73(3):261-262.

RIBEIRO, A.S., BATISTA, E.D.S., DAIRIKI, J.K., CHAVES, F.C.M., INOUE, L.A.K.A. 2016. Anesthetic properties of *Ocimum gratissimum* essential oil for juvenile matrinxã. *Acta Scientiarum. Animal Sciences*, 38(1):1-7.

ROBERTSON, L., THOMAS, P., ARNOLD, C.R. 1988. Plasma cortisol and secondary stress responses of cultured red drum (*Sciaenops ocellatus*) to several transportation procedures. *Aquaculture*, 68:115–130.

ROCHA, I.P. 2007. Carcinicultura brasileira: desenvolvimento tecnológico, sustentabilidade ambiental e compromisso social. *Revista da ABCC, Recife*.

RODRIGUEZ, J., LE MOULLAC. 2000. State of the art of immunological tools and health control of penaeid shrimp. *Aquaculture*, 191:109-119.

ROSE, J.D. 2002. The neurobehavioral nature of fishes and the question of awareness and pain. *Reviews in Fisheries Science*, 10:1–38.

ROSE, J. D., ARLINGHAUS, R., COOKE, S.J., DIGGLES, B.K., SAWYNOK, W., STEVEN, E.D., WYNNE, C.D.L. 2014. Can fish really feel pain? *Fish Fisheries* 15, 97-133.

ROSS. L.G., ROSS, B. 2008. Anaesthetic and sedative techniques for aquatic animals. Blackwell Publishing Ltd. Oxford. UK.

ROUBACH, R, GOMES, L.C., FONSECA, F.A.L., VAL, A.L. 2005. Eugenol as an efficacious anaesthetic for tambaqui, *Colossoma macropomum* (Cuvier). *Aquaculture Research*, 36:1056–1061.

ROY, L.A., DAVIS, D.A., SAOUD, I. P., HENRY, R. P. 2007. Effects of varying levels of aqueous potassium and magnesium on survival, growth, and respiration of the Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, reared in low salinity waters. *Aquaculture*, 262(2):461-469.

RUPPERT, E.E., FOX, R.D., BARNES, R.D. 1996. *Zoologia dos Invertebrados*. 6ed. São Paulo: Roca.

RUTHERFORD, K. M. D. 2002. Assessing pain in animals. *Animal Welfare*, 11:31-53.

SAINZ-HERNÁNDEZ, J. C., RACOTTA, I. S., DUMAS, S., HERNÁNDEZ-LOPEZ, J. 2008. Effect of unilateral and bilateral eyestalk ablation in *Litopenaeus vannamei* male and female on several metabolic and immunologic variables. *Aquaculture*, 283(1):188-193.

SALARI, M.H., AMINE, G., SHIRAZI, M.H., HAFEZI, R., MOHAMMADYPOUR, M. 2006. Antibacterial effects of *Eucalyptus globulus* leaf extract on pathogenic bacteria isolated from specimens of patients with respiratory tract disorders. *Clinical Microbiology and Infection*, 12:2.

SAMOCHA, T.M., LAWRENCE, A.L., POOSER, D., 1998. Growth and survival of juvenile *Penaeus vannamei* in low salinity water in a semi-closed recirculating system. *Israeli Journal of Aquaculture, Bamidgeh*, 50:55–59.

SANTOS, E.A., KELLER, R. 1993. Regulation of circulating levels of the crustacean hyperglycemic hormone: evidence for a dual feedback control system. *Journal of Comparative Physiology B*, 163:374–379.

SCHULLER, J. A., BARNARD, E. S., CAI, W. JUN, Y. C., WHITE, J. S., & BRONGERMA, M. L. 2010. Plasmonics for extreme light concentration and manipulation. *Nature materials*, 9(3):193-204.

SHERWIN, C. M. 2001. Can invertebrates suffer? Or how robust is argument by analogy? *Animal Welfare*, 10:103-118.

SIMÕES, C. M. O., SPITZER, V. Óleos essenciais. In: SIMÕES, C. M. O. et al. 2004. *Farmacognosia da planta ao medicamento*. 5ª ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS / Editora da UFSC, 467-495.

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

SILVA, A.F., BARBOSA, L.C.A., SILVA, E.A.M., CASALI, V.W. D., NASCIMENOTO, E.A. 2003. Composição química do óleo essencial de *Hyptis suaveolens* (L.) Poit. (Lamiaceae). *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, 6(1):1-7.

SILVA, J.R.D.A, DO CARMO, D. F.M., REIS, É.M., MACHADO, G.M.C., LEON, L.L., SILVA, B.O., FERREIRA, J.L.P., AMARAL, A.C.F. 2009. Chemical and biological evaluation of essential oils with economic value from *Lauraceae* species. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 20:1071-1076.

SILVA, N.C.C, BARBOSA, L., SEITO, L.N., FERNANDES JUNIOR, A. 2012a. Antimicrobial activity and phytochemical analysis of crude extracts and essential oils from medicinal plants. *Natural Product Research*, 26(16):1510-1514.

SILVA, L.L., PARODI, T.V., RECKZIEGEL, P., GARCIA, V.O., BURGER, M.E., BALDISSEROTTO, B., MALLMANN, C.A., PEREIRA, A.M.S., HEINZMANN, B. M. 2012b. Essential oil of *Ocimum gratissimum* L.: anesthetic effects, mechanism of action and tolerance in silver catfish, *Rhamdia quelen*. *Aquaculture*, 350-353:91-97.

SILVA, L.L., SILVA, D.T., GARLET, Q.I., CUNHA, M.A., MALLMANN, C.A., BALDISSERTTO, B., LONGHI, S.J., PEREIRA, A.M.S., HEINZMANN, B.M. 2013. Anesthetic activity of Brazilian native plants in silver catfish (*Rhamdia quelen*). *Neotropical Ichthyology*, 11:443-45.

SNEDDON, L.U. 2009. Pain perception in fish: indicators and endpoints. *ILAR Journal*, 50:338–342.

SNEDDON, L.U., ELWOOD, R.W., ADAMO, S.A., LEACH, M. C. 2014. Defining and assessing animal pain. *Animal Behaviour*, 97:201-212.

SNEDDON, L.U. 2015. Pain in aquatics animals. *The J. Exp. Biol.* 218:967-976.

SODERHALL, K., CERENIUS, L. 1992. Crustacean Immunity. *Annu. Rev. Fish Dis.* 3–23.

SODERHALL, K., CERENIUS, L., JOHANSSON, M.W. 1996. The prophenoloxidase activating system in invertebrates. K.S. Söderhäll, G.R. Iwanaga, G.R. Vasta (Eds.), *New directions in invertebrate immunology*. SOS Publications. Fair Haven, NJ. 229–253.

SOLTANI, M., MARMARI, G.H., MEHRABI, M.R., 2004. Acute toxicity and anesthetic effects of clove oil in *Penaeus semisulcatus* under various water quality conditions. *Aquaculture International*, 12:457–466.

SOUZA, V., LORENZI, H. 2008. *Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APG II*.

SOUZA, D.M., MARTINS, A.C., JENSEN, L.V., MONSERRA, J.M WASIELESKY, W., GARCIA, L. 2013. Effects of water temperature on oxidative stress parameters in the pink shrimp *Farfantepenaeus brasiliensis* during transport. *Aquaculture*, 416:310-314.

SOUZA, D. M., BORGES, V.D., FURTADO, P., ROMANO, L. A., WASIELESKY, W., MONSERRA, J. M., GARCIA, L.O. 2016. Antioxidant enzyme activities and immunological system analysis of *Litopenaeus vannamei* reared in biofloc technology (BFT) at different water temperatures. *Aquaculture*, 451:436-443.

SPERANDIO, L.M. 2004. Transporte de pós-larvas e juvenis de camarões de água doce. Jaboticabal. Universidade Estadual Paulista. Dissertação de Mestrado em Aquicultura. 43p.

THEOPOLD, U., SCHMIFDT, O., SODERHALL, K., DUSHAY, M.S. 2004. Coagulation in arthropods: defence, wound closure and healing. *Trends Immunology*, 25:289–294.

TOMBETTA, D. et al. 2005. Mechanisms of antibacterial action of three monoterpenes. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 49:2474-2478.

TIDWELL, J.H., COYLE, S., 2002. Evaluation of factors effecting survival during the transportation of the freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii*. Final Report for 2002 Federal-State Marketing Improvement Program. Kentucky State University.

TSING, A., ARCIER, J.M., BREHELIN, M. 1989. Haemocytes of penaeids and palaemonid shrimps: morphology, cytochemistry and hemograms. *Journal of the Invertebrate Pathology*, 53:64–77

TU, N.T., THANH, L.X., UNE, A., UKEDA, H., SAWAMURA, M. 2002. Volatile constituents of *Vietnamese pummelo*, orange, tangerine and peels oils. *Flavour and Fragrance Journal*, 17:169-74

VALENTI, W.C. 2000. Aquicultura no Brasil: bases para um desenvolvimento sustentável. Brasília: CNPq, 39p.

VAN WYK, P., SCARPA, J. 1999. Water quality requirements and management. In: Van Wyk, P., Davis-Hodgkins, M., Laramore, R., Main, K. L., Mountain, J., Scarpa, J. Eds.). *Farming marine shrimp in recirculating freshwater systems*. Florida Department of Agriculture and Consumer Services, Tallahassee, 144-162.

VARNER, G. 1999. How facts matter - on the language condition and the scope of pain in the animal kingdom. *Pain Forum*, 8:84-6.

YENARI, M.A., GIFFARD, G.R.G., SAPOLSKY, R.M., STEINBERG, G.K., 1999. The neuroprotective potential of heat shock protein 70 (HSP70). *Mol. Med. Today* 5, 525-531.

YU, J.H., SONG, J.H., CHOI, M.C., PARK, S.W. 2009. Effects of water temperature change on immune function in surf clams, *Macra veneriformis* (Bivalvia: Mactridae). *Journal of the Invertebrates Pathology*, 102:30–35

ZAHL, I.H., KIESSLING, A., SAMUELSEN, O.B., OLSEN, R.E. 2010. Anesthesia induces stress in Atlantic salmon (*Salmo salar*), Atlantic cod (*Gadus morhua*) and Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*). *Fish physiology and Biochemistry*, 36(3):719-730.

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

ZHANG, P., ZHANG, X., LI, J., HUANG, G. 2006. The effects of body weight, temperature, salinity, pH, light intensity and feeding condition on lethal DO levels of white leg shrimp, *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931). *Aquaculture*, 256:579-587.

ZHOU, J., WANG, L., XIN, Y., WANG, W.N., HE, W.Y., WANG, A.L., LIU, Y. 2010. Effect of temperature on antioxidant enzyme gene expression and stress protein response in white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Journal of Thermal Biology*, 35(6):284-289.

WALKER, P.J., MOHAN, C. V. 2009. Viral disease emergence in shrimp aquaculture: origins, impact and the effectiveness of health management strategies. *Reviews in Aquaculture*, 1:125-154.

WANG, X.W., WANG, J.X. 2013. Diversity and multiple functions of lectins in shrimp immunity. *Developmental & Comparative Immunology*, 39: 27-38.

WEBSTER, S. 2015. G. Endocrinology of metabolism and water balance: Crustacea Hyperglycemic Hormone. *Physiology*, 4:36.

WILCOCKSON, D.C., CHUNG, J.S., WEBSTER, S.G. 2002. Is crustacean hyperglycemic hormone precursor-related peptide a circulating neurohormone in crabs? *Cell and Tissue Research*, 307:129–138

**ARTIGO ANEXO**

**A utilização de anestésicos na sedação e transporte do camarão branco *Litopenaeus vannamei* (Crustacea, Penaeidae)**

**Co-autores: Geraldo Kipper Froes, Wilson Wasielesky Jr, Luciano de Oliveira Garcia, Ricardo Berteaux Robaldo**

**Segundo normas da revista “Aquaculture”**

**A utilização de anestésicos na sedação e transporte do camarão branco *Litopenaeus vannamei* (Crustacea, Penaeidae)**

Alessandra Janaína Becker<sup>a\*</sup>, Geraldo Kipper Froes<sup>a</sup>, Wilson Wasielesky Jr<sup>a</sup>, Luciano de Oliveira Garcia<sup>a</sup>, Ricardo Berteaux Robaldo<sup>aB</sup>

*<sup>a</sup>Programa de Pós – graduação em Aquicultura, Instituto de Oceanografia,  
Universidade Federal do Rio Grande - FURG, Rio Grande, RS, 96210-030, Brazil*

---

<sup>B</sup> email: [alessandra.jbecker@gmail.com](mailto:alessandra.jbecker@gmail.com)

## Resumo

O presente estudo teve como objetivo avaliar os tempos de indução e recuperação para juvenis do camarão branco *Litopenaeus vannamei* exposto a banhos de imersão com diferentes anestésicos: benzocaína (300, 400, 500mg L<sup>-1</sup>), mentol (600, 800, 1000mg L<sup>-1</sup>), *Citrus lemon* (84, 168, 252mg L<sup>-1</sup>), *Citrus sinensis* EO (84, 168, 252mg L<sup>-1</sup>) e *Eucalyptus globulus* (450, 675, 900mg L<sup>-1</sup>). Também foram avaliadas concentrações para procedimentos de manejo laboratoriais e transporte. Os camarões foram expostos a três tratamentos: controle (água do mar pura) por 5min, 252mg L<sup>-1</sup> *C. lemon* ou 900mg L<sup>-1</sup> *E. globulus*, até atingirem o estágio 2 de anestesia, após foram expostos ao ar (30s) e realizado o corte do rostro. Ao final, os camarões foram transferidos, aleatoriamente, para tanques com diferentes salinidades (2 ou 29ppm) para avaliação da sobrevivência (48h). Juvenis de *L. vannamei* foram transportados em sacos plásticos de polietileno por 12h nos seguintes tratamentos: controle (água do mar pura), etanol, 9 e 90mg L<sup>-1</sup> de *E. globulus*. Ao final, coletou-se a hemolinfa de dois camarões, por réplica, para a determinação da glicose. Os demais espécimes foram transferidos para tanques de 50L para avaliação da recuperação dos camarões 24h pós-transporte. A maioria dos anestésicos demonstrou tempos de indução dentro do esperado (<5min), com exceção das concentrações de 700mg L<sup>-1</sup> of mentol e 450mg L<sup>-1</sup> de *E. globulus* EO. Os tempos de indução para o OE de *E. globulus* OE foram concentração-dependentes. Benzocaína e mentol exibiram altos tempos de recuperação (>10min). Os camarões anestesiados com o OE de *C. lemon* mostraram alta mortalidade em ambas as salinidades do teste de estresse. Os tratamentos com *E. globulus* apresentaram sobrevivência total durante o transporte e no período de recuperação. Menores níveis de glicose foram encontrados em 90mg L<sup>-1</sup> de *E. globulus*. Em conclusão, todos os anestésicos foram eficazes para sedação em *L. vannamei*. Entretanto, o mentol não é indicado como anestésico para o camarão branco. As concentrações de 400 e 500mg L<sup>-1</sup> de benzocaína são indicadas para procedimentos de longa duração. Para testes de indução são recomendadas as concentrações de 300mg L<sup>-1</sup> de benzocaína, 84mg L<sup>-1</sup> de *C. sinensis*, 168mg L<sup>-1</sup> de *C. lemon* e 450 ou 900mg L<sup>-1</sup> de *E. globulus*. Além disso, 90mg L<sup>-1</sup> de *E. globulus* pode ser utilizado no transporte de camarões, pois melhora a qualidade da água e a sobrevivência durante e após o transporte.

Palavras-chave: anestesia, camarões, manejo, óleos essenciais, transporte

## 1. Introdução

Nos últimos anos, houve uma expansão da aquicultura em todo o mundo, estimulado, principalmente, pelo crescimento populacional, estagnação dos estoques pesqueiros e melhoria na produção e distribuição dos produtos aquáticos (FAO, 2016). O camarão branco, *Litopenaeus vannamei*, é uma espécie de grande importância econômica e ótima aceitação pelo mercado consumidor (Chiu et al., 2007). Com o aumento na produção e consumo de camarões, há uma crescente preocupação com o bem-estar desses animais durante as práticas de manejo na aquicultura.

O emprego de agentes anestésicos pode reduzir o estresse durante a manipulação e transporte, tranquilizando e diminuindo o custo metabólico dos camarões (Coyle et al., 2005). Entretanto, a maioria dos procedimentos com crustáceos ainda é realizada sem a utilização de anestésicos, devido à ausência de legislação específica para invertebrados e por serem considerados animais que não sentem "dor" (Cooper, 2011). Contudo, estudos recentes sugerem experiência de dor em crustáceos, além de apenas, capacidade de nocicepção (Barr et al., 2008; Elwood & Appel, 2009; Elwood, 2011; Della Rocca et al., 2015; Sneddon, 2015). Apesar de escassos, alguns trabalhos demonstram o potencial de substâncias anestésicas sintéticas e de origem vegetal, como óleos essenciais (OE) e seus derivados para camarões, por exemplo a Xylocaina durante a ablação de *L. vannamei* (Taylor et al., 2004), eugenol no transporte de *Fenneropenaeus indicus* (Akbari et al 2010) e *Lippia alba* no manejo e transporte de *L. vannamei* (Parodi et al., 2012).

A benzocaína e o mentol são os anestésicos mais utilizados na piscicultura no Brasil, pois são produtos baratos, seguros e facilmente adquiridos em farmácias de manipulação (Façanha & Gomes, 2005; Simões & Gomes, 2009). Os óleos essenciais são compostos naturais, constituídos de metabólitos secundários de plantas aromáticas, apresentam baixa toxicidade em mamíferos e são mais biodegradáveis que as substâncias sintéticas (Bakkali et al. 2008). Os OEs são comumente empregados na indústria farmacêutica, cosmética, medicinal e de alimentos (Figueiredo et al., 2008). O OE de *Eucalyptus globulus* é muito utilizado como terapêutico na saúde humana (Silva et al., 2009). OEs do gênero *Citrus* apresentam atividade sedativa e antioxidante, sendo empregados, principalmente em métodos de aromaterapia (Gonzales-Molina et al. 2010,

Palazzolo et al. 2013). Assim, não existem estudos sobre a ação anestésica desses óleos em camarões. Portanto, o objetivo deste estudo foi avaliar o potencial anestésico de diferentes substâncias (benzocaína, mentol, *Citrus lemon*, *Citrus sinensis* e *Eucalyptus globulus*), bem como determinar os tempos de indução e concentrações ideais para uso no manejo e transporte do camarão branco, *Litopenaeus vannamei*.

## 2. Material e métodos

### 2.1 Animais

O experimento foi realizado na Estação Marinha de Aquicultura, da Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, Brasil. Juvenis de *Litopenaeus vannamei* ( $12,2 \pm 0,7\text{g}$ ;  $13,2 \pm 0,3\text{cm}$ ) foram coletadas de viveiros equipados com tecnologia de bioflocos (BFT) e posteriormente transferidos para tanques de aclimatação (volume total 8000L) com aeração contínua (oxigênio dissolvido  $6,20 \text{ mg L}^{-1}$ ), salinidade 29ppm, pH 7,87 e temperatura de  $25^\circ \text{C}$ .

### 2.2 Testes de indução e recuperação da anestesia

Os óleos essenciais (*C. lemon*, *C. sinensis* e *globulus*) foram adquiridos comercialmente da empresa Vimontti, localizado em Santa Maria, RS. Os OES foram primeiramente diluídos em etanol (1:10) para sua posterior aplicação na água. O mentol (Vetec®) e a benzocaína foram diluídos em álcool etílico P.A., resultando em uma solução mãe a uma concentração de  $100\text{mg mL}^{-1}$ , de acordo com Roubach e Gomes (2001). As concentrações dos anestésicos foram estabelecidas com base na literatura e por meio de testes experimentais prévios (Parodi et al 2012; Becker et al. 2015). Etanol adicionado sozinho na água não induziu sedação ou anestesia em *L. vannamei* (Parodi et al 2012).

Os camarões foram transferidos para aquários de 1L e expostos a banhos de imersão com as seguintes concentrações: benzocaína ( $300, 400, 500\text{mg L}^{-1}$ ), mentol ( $600, 800, 1000\text{mg L}^{-1}$ ), *C. lemon* ( $84, 168, 252\text{mg L}^{-1}$ ), *C. sinensis* ( $84, 168, 252\text{mg L}^{-1}$ ) e *E. globulus* ( $450, 675, 900\text{mg L}^{-1}$ ). Os tempos de indução para sedação e anestesia foram avaliados segundo a descrição de Parodi et al (2012), a qual define dois estágios de anestesia para camarões: estágio 1 ou sedação: perda parcial de equilíbrio, com presença de resposta a estímulos externos; estágio 2 ou anestesia: caracterizado pela perda total de equilíbrio, sem resposta a estímulos externos. Para a recuperação, os

camarões foram colocados em aquários (1L) com água do mar sem anestésico e aeração contínua. Os camarões foram considerados recuperados assim que retomavam o equilíbrio e o comportamento normal de natação. Foram determinados que os tempos de indução ficassem entre 3-5min e a recuperação em até 10min (Tsantilas et al., 2006). Em todos os testes foi utilizado um cronômetro digital para registrar os tempos (expresso em segundos). O tempo máximo de observação foi de 30min.

### 2.3 Teste de estresse

Juvenis de *L. vannamei* foram submetidos a três diferentes tratamentos: controle (não anestesiados), OE-1 e OE-2, em aquários com 1L de água (n = 20 camarões/tratamento). No tratamento controle os camarões permaneceram nos aquários com água do mar pura durante 5 min, enquanto nos tratamentos OE-1 e OE-2 foram adicionados na água 252mg L<sup>-1</sup> de OE de *C. lemon* ou 900mg L<sup>-1</sup> de OE de *E. globulus*, respectivamente, até os camarões atingirem o estágio 2 de anestesia. Ao final, foram retirados dos aquários e expostos ao ar por 30s para o corte do rostro, simulando um procedimento de manejo. Em seguida, os camarões foram transferidos aleatoriamente para tanques de recuperação (50L) com diferentes salinidades (2 ou 29ppm) para avaliação da sobrevivência (24h), totalizando, ao final, 10 animais por tanque. Dessa forma os camarões foram divididos nos seguintes tratamentos:

C1: não anestesiados e transferidos para salinidade 29ppm;

C2: não anestesiados e transferidos para salinidade 2ppm;

OE-1a: anestesiados com o OE de *C. lemon* e transferidos para salinidade 29ppm;

OE-1b: anestesiados com o OE de *C. lemon* e transferidos para salinidade 2ppm;

OE-2a: anestesiados com o OE de *E. globulus* e transferidos para salinidade 29ppm;

OE-2b: anestesiados com o OE de *E. globulus* e transferidos para salinidade 2ppm.

A salinidade de 2ppm foi previamente ajustada com adição de água doce e monitorada com ajuda de um refratômetro óptico. A sobrevivência dos camarões foi registrada nos tempos (em horas): 0, 1, 12 e 24. Temperatura, oxigênio dissolvido, alcalinidade, pH e amônia foram medidos em 0, 12 e 24h de experimento.

### 2.4 Transporte e Teste de recuperação

Os camarões foram transportados em uma densidade de carga de 18,25 g L<sup>-1</sup> por 12 h em sacos plásticos de polietileno (60 L) (10 animais por saco) contendo 10 L de água, inflados com oxigênio dissolvido puro e amarrados com tiras de borracha para vedação. Os camarões foram divididos em quatro tratamentos (todos em triplicata): controle (água do mar pura), controle (etanol: 810mg L<sup>-1</sup>, correspondendo a maior concentração de etanol utilizada para diluir os OEs), 9 e 90mg L<sup>-1</sup> de *E. globulus* adicionados a água de transporte. Foi realizado o corte do rostro de todos os camarões antes de serem colocados nos sacos plásticos. Para manter a mesma temperatura, os sacos foram acondicionados em um "banho termostático" contendo água a 24 °C, mantida com a ajuda de um ar condicionado, simulando um transporte. Ao final do transporte, foi coletado hemolinfa de dois camarões, por réplica, por punção no seio ventral, com base nos pereopodos, através de seringas esterilizadas (2,5mL), contendo uma solução anticoagulante para crustáceos (0,1M glicose, 30M de citrato de sódio, 0,026M de ácido cítrico, 0,45M de NaCl, 0,02M de EDTA) (Söderhall & Smith, 1983). As amostras de hemolinfa foram transferidas para tubos de eppendorf (1,5mL) e armazenadas em um ultra-congelador (-80 °C) para posterior análise da glicose. A glicose foi medida utilizando um Kit comercial colorimétrico (GLICOSE HK PERFORM – Labtest).

Os demais camarões, cuja hemolinfa não foi coletada, foram submetidos a um teste de sobrevivência (24h) para verificar a influência de cada tratamento no estado dos animais após o transporte. Os camarões (n = 8 por tratamento) foram transferidas, ao acaso, para caixas de plástico retangulares (0,32 x 0,65 x 0,40 m) contendo 20L de água, constantemente areadas, temperatura de 24 ° C e salinidade a 29ppm (mesmas condições do transporte). A sobrevivência foi avaliada nos tempos (em horas): 0, 12 e 24.

### *2.5 Parâmetros da qualidade da água*

O oxigênio dissolvido e a temperatura da água foram medidos com um oxímetro YSI (Modelo 20 YSI Inc., Yellow Springs, OH, EUA). O pH foi verificado em um pHmetro de bancada DMPH-2 pH (Toledo, São Paulo, SP, Brasil) e a salinidade com um refratômetro óptico (RTS modelo - 101, Atago® dos EUA, Bellevue, WA, EUA, precisão: ±1 g/EU). A alcalinidade foi determinada de acordo com Baumgarten et al. (1996). Amônia total foi analisado de acordo com a metodologia da UNESCO (1983).

## 2.6 Análise estatística

Todos os dados foram expressos como média  $\pm$  SEM. Os gráficos da avaliação da atividade anestésica (concentração x tempo de indução da anestesia; concentração x tempo de recuperação da anestesia) foram feitos utilizando o software Sigma Plot 11,0. A homogeneidade das variâncias entre os grupos foi testada pelo teste de Levene. A comparação dos dados nos tempos de sedação, anestesia e recuperação entre as diferentes concentrações dos anestésicos foram analisadas usando ANOVA de uma- via, seguido pelo teste de Tukey. Dados não homogêneos foram transformados utilizando Log10. As análises foram realizadas utilizando o Software Statistica (versão 7.0, StatSoft, Tulsa, OK), com o nível mínimo de significância de  $P < 0,05$ .

## 3. Resultados

### 3.1 Testes de indução e recuperação da anestesia

Os dados sobre os tempos de indução e recuperação do *L. vannamei* exposto aos diferentes anestésicos é apresentado na Tabela 1. A benzocaína e o mentol promoveram rápidos tempos de indução para o estágio de sedação em todas as concentrações. Somente as concentrações de 400mg L<sup>-1</sup> de benzocaína e 1000mg L<sup>-1</sup> de mentol apresentaram tempos de anestesia (estágio 2) dentro dos 5min determinados. Com exceção de 300mg L<sup>-1</sup> de benzocaína, as demais concentrações de benzocaína e mentol demonstraram lenta recuperação dos camarões, quase excedendo os 30 minutos de observação (Fig1a e Fig1b). O OE de *C lemon* demonstrou os maiores tempos de recuperação entre os óleos essenciais (Fig1c). A concentração de 84 mg L<sup>-1</sup> de *C lemon* obteve os maiores tempos de sedação, anestesia e recuperação para esse OE. Não houve diferenças significativas para indução ao estágio 1 e estágio 2 entre as concentrações do OE de *C. sinensis*, contudo a recuperação foi mais rápida na menor concentração (84mg L<sup>-1</sup>) (Fig1d). Os tempos de indução e recuperação para o OE de *E. globulus* foram concentração-dependente, ou seja, quanto maior a concentração menores os tempos (Fig1e). Nenhum dos anestésicos testados causou mortalidade durante os testes.

### 3.2 Teste de estresse

Houve 100% de sobrevivência dos camarões do grupo C1 durante o teste de sobrevivência. Os camarões anestesiados com o OE de *C. lemon* apresentaram elevada mortalidade 1h após a transferência para as caixas de recuperação, sem diferença

significativa entre os tratamentos OE-1a e OE-1b (23%). Em comparação, o tratamento OE-2a obteve mínima mortalidade nesse mesmo tempo (6,7%). Depois de 12h, foram registrados mortalidade apenas para a menor salinidade, sendo maior nos tratamentos OE1a (33%) e OE-2b (23%) (Fig 2). A sobrevivência final foi de 100 e 95% para os camarões dos grupos C1 e C2; 43 e 36% para os grupos OE-1a e OE-1b e 43 e 26% para os tratamentos OE-2a e OE-2b, respectivamente. Os níveis de pH e alcalinidade foram menores nos tratamentos de menor salinidade (2ppm). A concentração de oxigênio foi inferior nos grupos OE-1a e OE-1b. Houve um aumento nos níveis de amônia nos tratamentos em OE-1a, OE-1b e C2 dentro das 24h de recuperação, em contrapartida diminuiu em OE-2a. Os valores de pH aumentaram nos grupos OE-2a e OE-2b em 24 horas (Tabela 2 e Tabela 3).

### *3.3 Concentração de Transporte e Teste de sobrevivência*

Os valores de temperatura e pH não apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos do transporte. A concentração de amônia foi significativamente maior no grupo controle (água do mar) e  $9\text{mg L}^{-1}$  ao final do transporte. A sobrevivência foi de 100% nos tratamentos com adição do anestésico. (Tabela 4). Os níveis de glicose foram mais baixos nos camarões transportados em  $90\text{mg L}^{-1}$  de *E. globulus* (Fig3). Durante o teste de sobrevivência, ocorreram mortalidades após 12h, para os camarões transportados nos tratamentos controle (água do mar - 10% e etanol - 18%). Ao final do teste de sobrevivência, os níveis de amônia registrados foram menores para os camarões transportados no tratamento  $90\text{mg L}^{-1}$  de *E. globulus* (Tabela 5).

## **4. Discussão**

### *4.1 Testes de indução e recuperação da anestesia*

Crustáceos não possuem respostas para dor claramente definidos (Elwood, 2011). No entanto, apresentam capacidade de memória, aprendizagem e evasão quando expostos a estímulos nocivos (Patterson et al 2007, Barr et al., 2008; Magee & Elwood, 2013; Sneddon 2015). Os anestésicos podem ajudar a minimizar possíveis efeitos negativos gerados pelo estresse e garantir o bem-estar dos camarões durante procedimentos de manejo e na pesquisa científica (Coyle et al., 2004; Rollin, 2006). Em crustáceos, a resposta ao estresse ocorre a partir de um efeito cascata, iniciando com a formação da resposta primária, a qual envolve o aumento da liberação do hormônio hiperglicêmico (CHH), resultando na elevação dos níveis de glicose e lactato na

hemolinfa, causando assim, alterações metabólicas, e conseqüentemente levando aos efeitos terciários, como perda de peso, redução do crescimento e supressão do sistema imune (Huberman, 2000; Aparicio-Simón et al., 2010).

Muitos estudos demonstram a eficácia da benzocaína e do mentol como anestésicos para peixes (Gomes et al., 2001; Façanha e Gomes, 2005; Gonçalves et al., 2008; Souza et al., 2012). No presente trabalho, foi observado que tanto o mentol, quanto a benzocaína, foram eficientes na indução aos estágios 1 e 2 de anestesia para *L. vannamei*, porém somente as concentrações de 400mg L<sup>-1</sup> de benzocaína e 1000mg L<sup>-1</sup> de mentol ficaram abaixo dos 5min determinados como tempo máximo de indução a anestesia, enquanto 800mg L<sup>-1</sup> de mentol foi o tempo mais alto entre esses dois anestésicos. Para as demais concentrações de mentol e benzocaína, os tempos ao estágio 2 ficaram em torno de 5min. Para a benzocaína, o aumento da concentração ocasionou lenta recuperação dos camarões, sendo o menor tempo observado em 300mg L<sup>-1</sup> (8,6 ± 1,14min). Todas as concentrações de mentol apresentaram altos tempos de recuperação (>10min). Para o tambaqui *Colossoma macropomum* anestesiado com mentol (50-200mg L<sup>-1</sup>) (Façanha e Gomes, 2005) e o pampo *Trachinotus marginatus* exposto a benzocaína (25-150mg L<sup>-1</sup>) (Okamoto et al., 2008), o aumento da concentração dos anestésicos, resultou na diminuição dos tempos de indução, porém aumentou o período de recuperação (3,7-10min para o mentol e 2-10min para a benzocaína). No geral, os camarões necessitam de concentrações maiores para anestésiar do que peixes, pois os anestésicos parecem atuar em diferentes receptores nos crustáceos (Lewbart & Mosley, 2012). Dessa forma, altas concentrações desses anestésicos, parecem ocasionar uma recuperação mais lenta dos animais.

O mentol sozinho não foi capaz de induzir anestesia em *Macrobrachium rosenbergii*, somente quando misturado com eugenol, além disso, o mentol não se misturou homogeneamente na água, formando uma camada espessa na superfície (Sadymohamed & Pal, 2009). A mesma característica foi observada neste experimento, o que pode ter inferido na ação e resposta do mentol, também demonstrou causar irritação e desconforto, posto que, os camarões apresentaram intensa agitação e presença de espasmos musculares quando submetidos a este anestésico. Altos tempos de recuperação também foram observados para *M. rosenbergii* exposto a 110mg L<sup>-1</sup> (17.6min) e 880 mg L<sup>-1</sup>(55min) de eugenol (Saydmohammed & Pal 2009), *L. vannamei*

anestesiados com 800mg L<sup>-1</sup> de lindocaína (24min) (Guzman-Sáenz et al., 2010) e 490mg L<sup>-1</sup> de *A. triphylla* OE (15min) (Parodi et al., 2012). Tempos de recuperação mais longos são indicados para práticas que exijam que os camarões continuem anestesiados após serem retirados da solução anestésica, permanecendo imobilizados, como durante biometrias, ablação do pedúnculo ocular ou coletas de hemolinfa (Guzman-Sáenz et al., 2010).

Um anestésico seguro é aquele que desempenha rápidos tempos de indução (entre 3-5min) e recuperação (até 10min), sem causar efeitos prejudiciais para os animais e o aplicador (Tsantilas et al., 2006). Para o OE de *C. sinensis* a indução ao estágio 1 levou cerca de 2min, contudo o maior tempo foi registrado em 450mg L<sup>-1</sup> de *E. globulus*, cuja indução ao estágio 2 foi mais lenta (>5min) entre todos os OEs testados. O mesmo foi observado para 98mg L<sup>-1</sup> de *A. tryphilla* (16min) e 800mg L<sup>-1</sup> de *L. alba* (10min) (Parodi et al., 2012). Nas demais concentrações de *C. lemon* e *C. sinensis* os tempos de indução a anestesia ficaram em torno de 2 a 5min. O que está de acordo com os tempos encontrados para 392mg L<sup>-1</sup> de eugenol (4min) (Parodi et al., 2012) e 475mg L<sup>-1</sup> de linalol (3,43min) (Becker et al., 2015). Todos os óleos essenciais foram eficientes em induzir estágio 1 e 2 de anestesia em *L. vannamei*, com tempos de recuperação dentro do esperado (<10min) e sem causar mortalidades. O aumento das concentrações de *E. globulus* diminuíram os tempos de indução e recuperação, sendo a concentração de 900mg L<sup>-1</sup> a mais eficaz comparado aos demais anestésicos, sendo assim indicada, para uso em procedimentos de curta duração, envolvendo rápida recuperação e retomada do equilíbrio dos camarões. Baixos tempos de recuperação também foram encontrados para *L. vannamei* anestesiado com linalol (<2min). Os OEs foram mais eficientes como anestésicos em relação ao mentol e a benzocaína.

### 3.2 Teste de estresse

Os tratamentos OE-1a e OE-1b exibiram elevada taxa de mortalidade durante o teste de sobrevivência, principalmente nos tratamentos de menor salinidade. O OE de *C. lemon* induziu os camarões a um estágio de anestesia profunda, influenciando no equilíbrio e natação, prejudicando assim, sua recuperação após o estresse do procedimento de manejo, visto a ocorrência de mortalidades até mesmo no grupo OE-1a na primeira hora após o teste. Além disso, quando comparado ao óleo de *E. globulus*, o tempo de recuperação para *C. lemon* foi mais alto, nos testes de indução, mesmo sendo

uma concentração menor. Essa resposta, também pode estar relacionada ao tempo de exposição, cujo indução ao estágio de anestesia para o óleo de *C. lemon* foi um pouco maior ( 3min). A benzocaína demonstrou efeitos negativos de estresse em *C. macropumum*, ocasionando aumento nos níveis de glicose sanguíneo (Gomes et al., 2001). Para *Micropterus salmoide* expostos ao óleo de cravo, houve bradicardia seguido de aumento do débito cardíaco (Cooke et al., 2004). O óleo de menta e o óleo de cravo apresentaram efeito tóxico para o camarão *L. schmitti*, porém não influenciaram na resposta da glicemia no músculo (Matulovic et al., 2014). No geral, maiores tempos de exposição ou altas concentrações aumentam o risco de parada respiratória e o tempo de recuperação (Sladky et al., 2001), contudo houve uma relação inversa entre as concentrações de cada óleo, pois nas maiores concentrações a recuperação foi mais rápida. Além disso, os componentes químicos de cada OE influenciam na resposta do anestésico, causando um efeito antagônico, sinérgico ou aditivo (Simões, 2004; Gobbo-Neto & Lopes, 2007; Silva, 2011). Entretanto, é necessário determinar a composição química de cada óleo, afim de entender melhor seu modo de ação.

Os camarões peneídeos necessitam de concentrações mínimas de sais na água para manter o equilíbrio osmótico, o crescimento e a sobrevivência no meio em que vivem (Saoud et al., 2003). Baixas salinidades diminuem a taxa de consumo de oxigênio, a frequência de muda e reduzem a osmolaridade da hemolinfa (Pan et al., 2014). Isso ocorre, devido a um desbalanço nos níveis iônicos na água, fazendo com que os animais tendem a perder maior quantidade de água e reter íons. Dessa forma, os camarões diminuem o seu metabolismo, e investem maior energia para manter a homeostase corpórea (Castille & Lawrence, 1981). Também possuem mecanismos osmorregulatórios de controle de volume celular e de aumento da atividade da bomba Na/K<sup>+</sup>-ATPase, localizada nas brânquias (Freire et al., 2008). Contudo, podem não conseguir se adaptar, levando a uma supressão do sistema imune (Le Moullac e Haffner, 2000). Logo, a salinidade de 2ppm influenciou diretamente na maior mortalidade nesses tratamentos (C2, OE-1b e OE-2b), porém os anestésicos parecem ter potencializado esse efeito, uma vez que igualmente intervém no metabolismo desses animais.

A transferência direta dos camarões, sem períodos de aclimação, ocasiona massiva mortalidade em até 24h (McGraw & Scarpa, 2002). O camarão *F. indicus* demonstraram elevada taxa de mortalidade quando transferidos diretamente da

salinidade de 30 para 5ppm (Kumlu & Jonnes, 1995). Pós – larvas de *L. vannamei* apresentaram até 50% de sobrevivência após 8h em tratamentos com salinidade a 5ppm (Van Wyk & Scarpa, 1999). Já pós – larvas de *F. brasiliensis* obtiveram 50% de sobrevivência após serem transferidos para salinidades de 12ppm após 24h de exposição (Jensen et al., 2014). O que corrobora com os resultados do presente estudo.

A alcalinidade foi significativamente menor nos tratamentos com salinidade a 2ppm. O aumento ou diminuição da salinidade influencia diretamente nos valores de alcalinidade, pois uma menor disponibilidade de íons na água altera a alcalinidade total, agindo sobre a formação de carbonato de cálcio (Maicá et al., 2014). A diminuição da alcalinidade interfere no processo de osmorregulação e respiração dos camarões, porque afeta as brânquias. Para *L. vannamei* é indicado níveis de alcalinidades acima de 100mg CaCO<sub>3</sub>/L (Furtado et al., 2011).

Foram observadas diferenças significativas nos níveis de oxigênio dissolvido entre todos os tratamentos em 12h, sendo menor nos grupos OE-1a e OE-1b, e diminuindo em todos os grupos após 24h, todavia os valores ficaram dentro do limite indicado para a espécie (5mg L<sup>-1</sup>) (Van Wyk & Scarpa, 1999; Li & Chen, 2001). Níveis de amônia aumentaram de 12 para 24h nos tratamentos EO-1a, EO-1b e EO-2a, o que foi acompanhado de um aumento simultâneo do pH, exceto para EO-1b, o qual permaneceu constante. A elevação do pH da água aumenta o potencial tóxico da amônia, porém não são recomendados valores de pH menores que 7, pois podem e afetar negativamente o desempenho dos camarões (Van Wyk & Scarpa, 1999). A temperatura, ficou dentro da faixa de tolerância ideal para *L. vannamei* (24 a 35°C) (Van Wyk & Scarpa, 1999).

#### *4.3 Transporte e Teste de sobrevivência*

A utilização de anestésicos pode melhorar a qualidade do transporte, diminuindo o metabolismo dos camarões, reduzindo, o consumo de oxigênio e a produção de CO<sub>2</sub> e amônia (Park et al., 2009; Akbari et al., 2010). São recomendados concentrações mais baixas de anestésicos para transporte, de modo a induzir apenas uma leve sedação, para que não interfira no equilíbrio e natação, evitando possíveis lesões nos camarões (Wagner et al., 2003).

Níveis de oxigênio foram baixos ao final do transporte em todos os tratamentos, o que pode ter sido em consequência de um vazamento de oxigênio dos sacos plásticos, já que se encontravam consideravelmente murchos em relação ao tempo inicial. Apesar disso, o menor valor de OD foi encontrado em 90mg L<sup>-1</sup> de *E. globulus* e o maior no controle (água do mar pura). Diferente do encontrado por Akbari et al. 2010, cuja concentração de 3,7mg L<sup>-1</sup> de eugenol mostrou valor maior de OD (4,2mg L<sup>-1</sup>) que o grupo controle (1,88mg L<sup>-1</sup>) ao final do transporte de 12h para pós-larvas de *F. indicus*. Becker et al. 2015 não observou diferenças de OD entre os tratamentos com linalol e o controle (água do mar pura e etanol) após 8h de transporte.

As temperaturas permaneceram estáveis com o auxílio do "banho-termostatizado". Além disso, a temperatura também pode influenciar na concentração de oxigênio durante o transporte. O que foi confirmado por Jensen et al 2012, o qual, observou uma acentuada redução nos níveis de oxigênio nas primeiras horas de transporte de *F. brasiliensis* em temperaturas mais elevadas (25-28°C), comparando as menores temperaturas (16-22°C). O transporte dos camarões *F. brasiliensis* a 22,9°C (Souza et al. 2013) e *Macrobrachium rosenbergii* a 20°C (Tidwell & Coyle, 2002) obteve resultados positivos na qualidade da água e sobrevivência dos camarões. Em contrapartida, os níveis de amônia foram menores que os encontrados para *F. brasiliensis* (1,6mg L<sup>-1</sup>) (Souza et al., 2013) e maiores que *F. indicus* (0,17mg L<sup>-1</sup>) (Akbari et al., 2010). Valores acima de 0,87mg L<sup>-1</sup> foram considerados tóxicos para *L. vannamei* após 2h de transporte (Giroto, 2010).

A variação nos níveis de glicose na hemolinfa é considerada uma das principais respostas ao estresse em camarões (Racotta & Palácios, 1998). Valores de glicose diferiram entre os tratamentos, sendo menor na maior concentração de *E. globulus* (19,4mg/dl), o qual foi significativamente menor que o encontrado para *L. schimitti* e *F. paulensis* em tratamentos sem adição de anestésico (43,2mg/dl e 45,8mg/dl, respectivamente) (Matulovic, 2014), porém foram semelhantes aos valores encontrados ao controle (água do mar) e 9mg L<sup>-1</sup> de *E. globulus*. A adição de anestésicos no transporte parece influenciar positivamente o estado fisiológico dos animais e garantir um melhor desempenho, o que pode ser também confirmado pela melhora da capacidade antioxidante do camarão branco *L. vannamei* transportados com adição de *L.*

*alba* e seu isolado linalol na água do transporte (Parodi et al., 2012; Becker et al., 2015). Houve mortalidades apenas para os grupos controle ao final do transporte.

Durante o teste de sobrevivência, não houve diferenças significativas nos parâmetros de qualidade da água, exceto para a amônia, que foi menor nos tratamentos em que os camarões foram transportados com 90mg L<sup>-1</sup> de *E. globulus*. Os valores de amônia no tratamento 90mg L<sup>-1</sup> de *E. globulus* não aumentaram no decorrer do teste de sobrevivência em relação aos valores encontrados no transporte, como ocorreu com os outros grupos. A maior concentração de anestésico resultou nos melhores resultados de qualidade de água do transporte e do teste de sobrevivência, indicando um possível efeito protetor sobre os camarões mesmo após o final do transporte, podendo possivelmente ter minimizado o estresse causado nesse procedimento.

Em conclusão, um mesmo anestésico pode ter efeitos diferentes, dependendo do tamanho, peso e da espécie utilizada (Ross & Ross, 2008). Todos os anestésicos foram eficazes ao induzir estágio de sedação em *L. vannamei*, além de não causarem mortalidades nos testes de indução. O mentol não é indicado como anestésico para o camarão branco, por demonstrar causar irritação e desconforto no camarão branco. As concentrações de 400 e 500mg L<sup>-1</sup> de benzocaína podem ser indicados para procedimentos de longa duração. Para testes de indução são indicadas as concentrações de 300mg L<sup>-1</sup> de benzocaina, 84mg L<sup>-1</sup> de *C. sinensis*, 168mg L<sup>-1</sup> de *C. lemom* e 450 ou 900mg L<sup>-1</sup> de *E. globulus*, cujos tempos ficaram dentro do determinado para um anestésico seguro. Além disso, 90mg L<sup>-1</sup> de *E. globulus* pode ser utilizado no transporte de camarões, melhorando a qualidade e sobrevivência durante e após o transporte

## Referências Bibliográficas:

Akbari, S., Khoshnod, M.J., Rajaian, H., Afsharnasab, M., 2010. The Use of Eugenol as an anesthetic in Transportation of with Indian Shrimp (*Fenneropenaeus indicus*) Post Larvae. Turk. J. Fish. Aquat. Sci.10, 423-429.

Aparicio-Simón, B., Piñon, M., Racotta, R., Racotta, I.S., 2010. Neuroendocrine and metabolic responses of Pacific whiteleg shrimp *Litopenaeus vannamei* exposed to acute handling stress. Aquaculture. 298, 308–314.

Bakkali, F, Averbeck S., Averbeck, D., Daomar, M. 2008. Biological effects of essential oils –A review. Food Chem. Toxicol. 46. 446-47.

Barr S, Laming P.R, Dick J.T.A, Elwood RW. 2008. Nociception or pain in a decapod crustacean? Anim. Behav. 75, 745–751.

Baumgarten, M.G.Z., Rocha, J.M.B., Niencheski, L.F.H., 1996. Manual de análises em oceanografia química. Ed. FURG, Rio Grande, 132p.

Becker, A.J., Jensen, L., Garcia, L.O., Silva, L.L., Monserrat, J.M., Wasielesky, W., Heinzmann, B.M., Baldisserotto, B. 2015. The efficacy of linalool on transportation and anesthesia of white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Crustacea, Penaeidae), FENACAM & LACQUA/SARA (WAS) '15 - Meeting Abstract. <https://www.was.org/meetings/ShowAbstract.aspx?Id=38657>.

Bendschneider K, Robinson R.J. 1952. A new spectrophotometric method for the determination of nitrite in sea water. J. Mar. Res. 11, 87-96.

Castille, F.L., Lawrence, A.L. 1981. The effect of salinity on the osmotic, sodium and chloride concentrations in the hemolymph of euryhaline shrimp of the genus *Penaeus*. Comp. Biochem. Phys. A. 68, 75-80.

Chiu, C.H., Guu, Y.K., Liu, C.H., Pan, T.M., Cheng, W. 2007. Immune responses and gene expression in white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, induced by *Lactobacillus plantarum*. Fish Shellfish Immunol. 23, 364–377.

Cooke, S.J., Cory, D., Suski, K.G., Ostrand, Tufts B.L., Wahl, D.H. 2004. Behavioral and physiological assessment of low concentrations of clove oil anaesthetic for handling and transporting largemouth bass (*Micropterus salmoides*). Aquaculture. 239, 509-529.

Cooper, J.E. 2011. Anesthesia, analgesia and euthanasia of invertebrates. Ilar Journal, 52(2), 196-204.

Coyle, S.D., Dasgupta, S., Tidwell, J.H., Beavers, T., Bright, L.A., Yasharian, D.K. 2005. Comparative efficacy of anesthetics for the freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*. J. World Aquacult. Soc. 36, 282–290.

Della Rocca, G. 2015. Pain and suffering in invertebrates: an insight on cephalopods. Amer. J. Anim Vet. Sc. 10:77.

Elwood, R.W. 2011. Pain and suffering in invertebrates? Ilar Journal. 52, 175-184.

FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations (2016). The State of World Fisheries and Aquaculture. Rome, Italy: Disponível em: <http://www.fao.org>

Façanha, M. F., Gomes, L. D. C. 2005. Efficacy of menthol as an anesthetic for tambaqui (*Colossoma macropomum*, Characiformes: Characidae). Acta Amazonica. 35, 71-75.

Figueiredo, A.C., Barroso, J.G., Pedro, L.G., Scheffer, J.J. 2008. Factors affecting secondary metabolite production in plants: volatile components and essential oils. Flavour Frag. J. 23, 213-226.

Freire, C.A., Onken, H., Mcnamara, J.C. 2008. A structure–function analysis of ion transport in crustacean gills and excretory organs. *Comp. Bioch. Phys. A.* 151, 272-304.

Furtado, P.S., Poersch, L.H., Wasielesky, W. 2011. Effect of Calcium Hydroxide, Carbonate and Sodium Bicarbonate on Water Quality and Zootechnical Performance of Shrimp *Litopenaeus vannamei* Reared in BioFlocs Technology (BFT) Systems. *Aquaculture.* 32(1), 130-135.

Gomes, L.C., Chippari-Gomes, A.R., Lopes, N. P., Roubach, R., Araujo-Lima, C.A. 2001. Efficacy of benzocaine as an anesthetic in juvenile tambaqui *Colossoma macropomum*. *J. World Aquacult. Soc.* 32(4):426-431.

Gonçalves, A.F.N., Santos, E.C.C., Fernandes, J.B.K., Takahashi, L. S. 2008. Mentol e eugenol como substitutos da benzocaína na indução anestésica de juvenis de pacu. *Acta Sc. Anim. Sci.* 30, 339-344.

Gobbo-Neto, L., Lopes, N.P. 2007. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. *Quím. Nova.* 30(2), 374.

Gonzalez-Molina, E., Domiguez-Perles, R., Moreno, D.A, Garcia-Viguera, C. 2010. Natural bioactive compounds of *Citrus limon* for food and health. *J. Pharmaceut Biomed.* 51, 327–345.

Guzmán-Sáenz, F.M., González-Alanís, P., Sanchez, M., Jesús, G., Gutierrez, G.S., Aguirre, G.G., Perez-Castañeda, R. 2010. The use of different drugs to anesthetize shrimp *Litopenaeus vannamei* Boone in aquaculture practices. *Rev. electrónica Vet.* Disponível em: <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n030310/031009.pdf>. (Acessado em 10 Abril de 2016).

Huberman, A. Shrimp Endocrinology. A review. 2000. *Aquaculture.* 191, 191-208.

Jensen, V.L. 2012. Produção e Transporte do camarão-rosa *Farfantepenaeus brasiliensis* para a pesca amadora: uma alternativa sustentável? São Carlos, São Paulo. Universidade Federal de São Carlos. Dissertação de Doutorado em Ecologia e Recursos Naturais, 146p.

Jensen, L.V., Furtado, P.S., Fugimura, M.M.S., Garcia, L.O., Poersch, L.H., Verani, J.R., Wasielesky, W. 2014. The effect of stocking density on the transport of pink shrimp *Farfantepenaeus brasiliensis* (Crustacea: Decapoda), as live bait for sport fishing in Brazil. *Latin Am. J. Aq. Res.* 42, 204-212.

Lin, Y.C., Chen, J.C., 2001. Acute toxicity of ammonia on *Litopenaeus vannamei* (Boone) juveniles at different salinity levels. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 259, 109- 119.

Le Moullac, G., Haffner, P. 2000. Environmental factors affecting immune responses in Crustacea. *Aquaculture,* 191, 121-131.

Lewbart, G.A., Mosley, C. 2012. Clinical anesthesia and analgesia in invertebrates. *J. Exotic Pet Med.* 21(1), 59-70.

Kumlu, M., Jones, D.A. 1995. Salinity tolerance of hatchery-reared postlarvae of *Penaeus indicus* H. Milne Edwards originating from India. *Aquaculture* 130, 287-296.

Maicá, P.F., Borba, M. R.D., Martins, T. G., Wasielesky Jr, W. 2014. Effect of salinity on performance and body composition of Pacific white shrimp juveniles reared in a super-intensive system. *Rev. Bras. Zootec.* 43(7), 343-350.

Matulovic, F.M. 2014. Avaliação de óleos essenciais como anestésico em camarões marinhos, *Litopenaeus schmitti* e *Farfantepenaeus brasiliensis*. Seropédica, Rio de Janeiro. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Dissertação de Mestrado em Zootecnia, 60p.

Magee, B., Elwood R.W. 2013. Shock avoidance by discrimination learning in the shore crab (*Carcinus maenas*) is consistent with a key criterion for pain. *J. Exp. Biol.* 216, 353-358.

Matos, F.J.A. 2000. Plantas medicinais: guia de seleção e emprego de plantas usadas em fitoterapia no Nordeste do Brasil. 2ed. Fortaleza: Imprensa Universitária-UFC. 344p.

McGraw, J.W., Davis, D.A., Teichert-Coddington, D., Rouse, D.B. 2002. Acclimation of *Litopenaeus vannamei* postlarvae to low salinity: influence of age, salinity endpoint, and rate of salinity reduction. *J. World Aquac. Soc.* 33, 78–84.

Palazzolo, E., Laudicina, V.A., Germanà, M.A. 2013. Current and potential use of citrus essential oils. *Current Organic Chem.* 17(24), 3042-3049.

Pan, L.Q., Liu, H.Y., Zhao, Q. 2014. Effect of salinity on the biosynthesis of amines in *Litopenaeus vannamei* and the expression of gill related ion transporter genes, *J. Ocean. U. China.* 13, 453-459.

Park, I.S., Park, M.O., Hur, J.W., Kim, D.S., Chang, Y.J., Kim, Y.J., Park, J.Y., Johnson, S.C. 2009. Anesthetic effects of lidocaine- hydrochloride on water parameters in simulated transport experiment of juvenile winter flounder, *Pleuronectes Americanos*. *Aquaculture.* 294, 76–7.

Parodi, T.V., Cunha, M.A., Becker, A.G., Zeppenfeld, C.C., Martins, D.I., Koakoski, G., Baldissarroto, B. 2014. Anesthetic activity of the essential oil of *Aloysia triphylla* and effectiveness in reducing stress during transport of albino and gray strains of silver catfish, *Rhamdia quelen*. *Fish Physiol. Biochem.* 40, 323-334.

Patterson, L., Dick, J.T.A., Elwood, R.W. 2007. Physiological stress responses in the edible crab, *Cancer pagurus*, to the fishery practice of de-clawing. *Mar. Bio.* 152, 265–272.

Perazzolo, L.M., Gargioni, R., Ogliari, P., Barracco, M.A.A., 2002. Evaluation of some hemato-immunological parameters in the shrimp *Farfantepenaeus paulensis* submitted to environmental and physiological stress. *Aquaculture.* 214, 19-33.

Racotta, I. S., & Palacios, E. 1998. Hemolymph metabolic variables in response to experimental manipulation stress and serotonin injection in *Penaeus vannamei*. *J. World Aquacult. Soc.* 29, 351-356.

Ross, L.G., Ross, B. 2008. Anaesthetic and sedative techniques for aquatic animals 3rd. Oxford; Ames, Iowa: Blackwell, 222 p.

Saoud, I.P., Davis, D.A., Rouse, D.B. 2003. Suitability studies of inland well waters for *Litopenaeus vannamei* culture. *Aquaculture,* 217(1), 373-383,

Saydmohammed, M., Pal, A.K., 2009. Anesthetic effect of eugenol and menthol on handling stress in *Macrobrachium rosenbergii*. *Aquaculture.* 298, 162–167.

Silva, J.R.D.A, Doo Carmo, D. F.M., Reis, É.M., Machado, G.M.C., Leon, L.L., Silva, B.O., Ferreira, J.L.P., Amaral, A.C.F. 2009. Chemical and biological evaluation of essential oils with economic value from *Lauraceae* species. *J. Brazil. Chem. Soc.* 20, 1071-1076.

Simões, C. M. O., Spitzer, V. Óleos essenciais. In: Simões, C.M.O. et al. 2004. Farmacognosia da planta ao medicamento. 5ª ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS / Editora da UFSC, 467-495.

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

Sladky, K., Swanson, C.R., Stoskopf, M.K., Loomis, M.R., Lewbart, G.A. 2001. Comparative efficacy of MS222 and clove oil for use as anesthetics in red pacu (*Piaractus brachypomus*). *AJVR.* 62, 337–342.

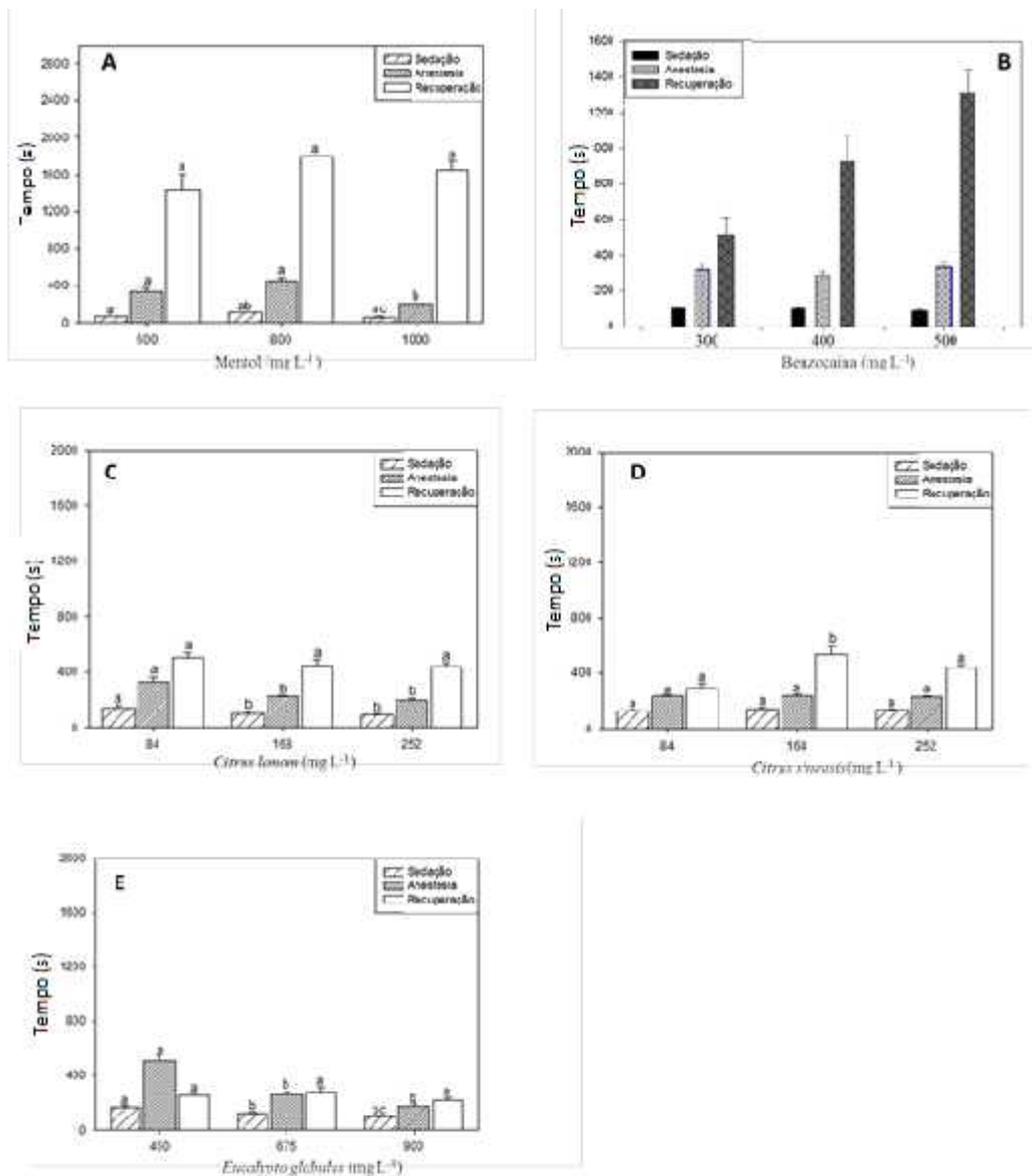
- Sneddon LU. 2015. Pain in aquatic animals. *J. Exp. Biol.* 218, 967-976.
- Söderhäll, K., Smith, V.J. 1983. Separation of the haemocyte populations of *Carcinus maenus* and other marine decapods, and prophenoloxidase distribution. *Dev. Comp. Immunol.* 7, 229–239.
- Söderhall, K., Cerenius, L., 1998. Role of prophenoloxidase-activating system in invertebrate immunity. *Curr. Opin. Immunol.* 10, 23–28.
- Soltani, M., Marmari, G.H., Mehrabi, M.R., 2004. Acute toxicity and anesthetic effects of clove oil in *Penaeus semisulcatus* under various water quality conditions. *Aquacult. Int.* 12, 457–466.
- Souza, R.A.R., Carvalho, C.V.A., Nunes, F.F., Scopel, B.R., Guarizi, J.D., Tsuzuki, M.Y. 2012. Efeito comparativo da benzocafina, mentol e eugenol como anestésicos para juvenis de robalo peva. *Boletim do Instituto de Pesca, São Paulo*, 38(3), 247-255.
- Souza, D.M., Martins, A.C., Jensen, L., Monserrat, J.M., Wasielesky W.Jr., Garcia, L. 2013. Effects of water temperature on oxidative stress parameters in the pink shrimp *Farfantepenaeus brasiliensis* during transport. *Aquaculture.* 416 – 417, 310 – 314.
- Rollin, B.E. 2006. The regulation of animal research and the emergence of animal ethics: A conceptual history. *Theoretical Med. Bioeth.* 27,285-304.
- Taylor J., Vinatea L., Ozorio R., Schuweitzer R., Andreatta E.R. 2004. Minimizing the effects of stress during eyestalk ablation of *Litopenaeus vannamei* females with topical anesthetic and a coagulating agent. *Aquaculture.* 233, 173–179.
- Tsantilas H., Galatos, A.D., Athanassopoulou, F., Prassinou, N.N., Kousoulaki, K. 2006. Efficacy of 2-phenoxyethanol as an anaesthetic for two size classes of white sea bream, *Diplodus sargus* L., and sharp snout sea bream, *Diplodus puntazzo* C. *Aquaculture.* 253, 64-70.
- Tidwell, J.H., Coyle, S. 2002. Evaluation of factors effecting survival during the transportation of the freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii*. Final Report for 2002 Federal-State Marketing Improvement Program. Kentucky State University.
- United Nations Educational, Scientific and Cultural Organization - UNESCO. 1983. Chemical methods for use in marine environmental monitoring. Manual and guides 12, Paris: Intergovernmental Oceanographic Commission.
- Wagner, G.M., Singer, T.D., McKinley, R.S., 2003. The ability of clove oil and MS-222 to minimize handling stress in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum). *Aquacult. Res.* 34, 1139–1146.
- Van Wyk, P., Scarpa, J. 1999. Water quality and management. In: Van Wyk, P. et al. (Eds.). *Farming marine shrimp in recirculating freshwater systems*. Florida department of agriculture and consumer services, Tallahassee, 128-138.

**Tabela. 1** Tempo requerido para indução e recuperação da anestesia para juvenis do camarão *L vannamei* expostos aos anestésicos: benzocaína, mentol, *C lemon*, *C sinensis* e *E. globulus*.

Anestésico	Concentração (mg L <sup>-1</sup> )	Tempo (min)		
		Sedação	Anestesia	Recuperação
Benzocaína	300	1,70±0,20 <sup>b</sup>	5,29±0,07 <sup>b</sup>	8,57±1,14 <sup>c</sup>
	400	1,63±0,07 <sup>bc</sup>	4,77±0,35 <sup>bc</sup>	15,37±2,5 <sup>b</sup>
	500	1,47±0,14 <sup>c</sup>	5,52±0,47 <sup>b</sup>	21,9±2,18 <sup>ab</sup>
Mentol	600	1,19±0,03 <sup>cd</sup>	5,66±0,65 <sup>b</sup>	24±2,90 <sup>ab</sup>
	800	1,46±0,30 <sup>c</sup>	7,50±0,61 <sup>a</sup>	30±0,01 <sup>a</sup>
	1000	1,00±0,14 <sup>d</sup>	3,40±0,11 <sup>bd</sup>	27,5±1,62 <sup>a</sup>
<i>Citrus lemon</i>	84	2,40±0,27 <sup>a</sup>	5,52±0,54 <sup>b</sup>	8,40±0,63 <sup>c</sup>
	168	1,70±0,16 <sup>b</sup>	3,70±0,16 <sup>d</sup>	7,45±0,70 <sup>c</sup>
	252	1,48±0,16 <sup>c</sup>	3,29±0,22 <sup>b</sup>	7,30±0,50 <sup>c</sup>
<i>Citrus sinensis</i>	84	2,14±0,2 <sup>a</sup>	3,94±0,16 <sup>cd</sup>	4,95±0,60 <sup>d</sup>
	168	2,45±0,18 <sup>a</sup>	4,01±0,17 <sup>c</sup>	8,96±1,01 <sup>c</sup>
	252	2,30±0,12 <sup>a</sup>	3,84±0,15 <sup>d</sup>	7,40±0,43 <sup>c</sup>
<i>Eucalyptus globulus</i>	450	2,83±0,18 <sup>a</sup>	8,5±0,70 <sup>a</sup>	4,23±0,30 <sup>d</sup>
	675	2,01±0,12 <sup>b</sup>	4,35±0,34 <sup>cd</sup>	4,64±0,70 <sup>d</sup>
	000	1,50±0,23 <sup>bc</sup>	2,93±0,30 <sup>e</sup>	3,63±0,30 <sup>e</sup>

Diferentes letras na mesma coluna indicam diferenças significativas entre os tempos entre todas as concentrações de anestésicos testadas ( $p < 0,05$ ). Os valores são reportados com médias  $\pm$  SEM.

**Fig 2:** Tempo necessário para a indução aos estágios de sedação, anestesia e recuperação para juvenis do camarão *L vannamei* expostos a banhos de imersão com os anestésicos: A) Mentol; B) Benzocaína; C) *C. lemon*; E) *C. sinsensis* e D) *E. globulus*.



\* Diferentes letras indicam diferenças significativas entre as concentrações para o mesmo anestésico (P<0.05).

**Tabela 2.** Parâmetros físico-químicos da água durante o teste de sobrevivência no tempo 12h, após o teste de estresse com juvenis de camarões *L. vannamei* anestesiados e não anestesiados.

Parâmetros	Tratamentos (12h)					
	C1	C2	EO-1a	EO-1b	EO-2a	EO-2b
OD (mg L <sup>-1</sup> )	6,75 ± 0,03 <sup>b</sup>	6,9 ± 0,02 <sup>b</sup>	5,24 ± 0,01 <sup>c</sup>	5,36 ± 0,05 <sup>c</sup>	8,39 ± 0,02 <sup>a</sup>	8,43 ± 0,12 <sup>a</sup>
pH	7,83 ± 0,05	7,2 ± 0,02	8,10 ± 0,01	7,57 ± 0,01	7,47 ± 0,07	6,76 ± 0,05
Temperatura (°C)	24,2 ± 0,12	24,1 ± 0,16	24,3 ± -0,09	24,2 ± 0,01	23,4 ± 0,22	23,4 ± 01,2
Alcalinidade (CaCO <sub>3</sub> /L)	112 ± 3,02 <sup>a</sup>	25 ± 2,5 <sup>b</sup>	128 ± 1,67 <sup>a</sup>	28 ± 4,41 <sup>b</sup>	110 ± 2,89 <sup>a</sup>	28 ± 3,33 <sup>b</sup>
TAN	0,15 ± 0,02 <sup>cb</sup>	0,34 ± 0,05 <sup>a</sup>	0,16 ± 0,02 <sup>b</sup>	0,20 ± 0,01 <sup>b</sup>	0,32 ± 0,08 <sup>a</sup>	0,20 ± 0,08 <sup>b</sup>

OD: oxigênio dissolvido; TAN: amônia total. Diferentes letras indicam diferenças significativas entre as concentrações para o mesmo anestésico (P<0.05)

**Tabela 3.** Parâmetros físico-químicos da água durante o teste de sobrevivência no tempo 24h, após o teste de estresse com juvenis de camarões *L. vannamei* anestesiados e não anestesiados.

Parâmetros	Tratamentos (24h)					
	C1	C2	EO-1a	EO-1b	EO-2 <sup>a</sup>	EO-2b
OD (mg L <sup>-1</sup> )	5,71 ± 0,03	6,3 ± 0,02	5,25 ± 0,03	5,31 ± 0,01	6,29 ± 0,03 <sup>b</sup>	7,53 ± 0,05 <sup>a</sup>
pH	7,9 ± 0,02 <sup>a</sup>	7,61 ± 0,02 <sup>b</sup>	8,08 ± 0,01 <sup>a</sup>	7,57 ± 0,03 <sup>b</sup>	7,94 ± 0,01 <sup>a</sup>	7,57 ± 0,03 <sup>b</sup>
Temperatura (°C)	24,3 ± 0,12	24,3 ± 0,16	24,6 ± 0,03	24,6 ± 0,03	24,1 ± 0,03	24 ± 0,03
Alcalinidade (CaCO <sub>3</sub> /L)	109 ± 1,85	30 ± 3,04	108 ± 1,67 <sup>a</sup>	28 ± 1,67 <sup>a</sup>	102 ± 1,67 <sup>a</sup>	33 ± 1,67 <sup>b</sup>
TAN	0,16 ± 0,03 <sup>c</sup>	0,34 ± 0,05 <sup>a</sup>	0,26 ± 0,02 <sup>b</sup>	0,38 ± 0,08 <sup>a</sup>	0,21 ± 0,07 <sup>c</sup>	0,22 ± 0,04 <sup>c</sup>

OD: oxigênio dissolvido; TAN: amônia total. Diferentes letras indicam diferenças significativas entre as concentrações para o mesmo anestésico (P<0.05)

**Tabela 4.** Parâmetros de qualidade da água para o transporte (12h) de juvenis do camarão branco *L. vannamei* em sacos plásticos de polietileno nos seguintes tratamentos: controle (água do mar pura), etanol e 90mg L<sup>-1</sup> de *E. globulus* adicionado na água.

Parâmetros	Transporte			
	Controle	Etanol	10 µL L <sup>-1</sup> <i>E. globulus</i>	100 µL L <sup>-1</sup> <i>E. globulus</i>
OD (mg L <sup>-1</sup> )	6,12 ± 0,12 <sup>a</sup>	5,75 ± 1,12 <sup>ab</sup>	5,72 ± 0,84 <sup>ab</sup>	5,04 ± 1,6 <sup>b</sup>
pH	6,91 ± 0,12	6,65 ± 0,02	6,8 ± 0,06	6,7 ± 0,01
Temperatura (°C)	24,3 ± 0,06	24,5 ± 0,08	24,4 ± 0,07	24,6 ± 0,01
Alcalindade (CaCO <sub>3</sub> /L)	125 ± 1,67 <sup>a</sup>	113 ± 4,41 <sup>b</sup>	117 ± 1,0 <sup>a</sup>	111 ± 1,3 <sup>b</sup>
TAN	0,73 ± 0,3 <sup>a</sup>	0,20 ± 0,01 <sup>c</sup>	0,54 ± 0,02 <sup>b</sup>	0,21 ± 0,03 <sup>c</sup>

OD: oxigênio dissolvido; TAN: amônia total. Diferentes letras na mesma linha indicam diferenças significativas entre os tratamentos.

**Tabela 5.** P. Parâmetros de qualidade da água durante o período de recuperação dos camarões *L. vannamei* após o transporte.

Parâmetros	Recuperação			
	Controle	Etanol	10 $\mu\text{L L}^{-1}$ <i>E. globulus</i>	100 $\mu\text{L L}^{-1}$ <i>E. globulus</i>
OD ( $\text{mg L}^{-1}$ )	8,65 $\pm$ 0,07	8,41 $\pm$ 0,11	8,44 $\pm$ 0,10	8,59 $\pm$ 0,10
pH	7,8 $\pm$ 0,06	7,8 $\pm$ 0,05	7,9 $\pm$ 0,06	8,0 $\pm$ 0,06
Temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ )	23 $\pm$ 0,2	23,2 $\pm$ 0,2	23,2 $\pm$ 0,2	23 $\pm$ 0,2
Alcalinidade ( $\text{CaCO}_3/\text{L}$ )	121 $\pm$ 3,15 <sup>b</sup>	133 $\pm$ 1,25 <sup>a</sup>	130 $\pm$ 4,33 <sup>a</sup>	126 $\pm$ 5,4 <sup>a</sup>
TAN	0,36 $\pm$ 0,06 <sup>b</sup>	0,46 $\pm$ 0,06 <sup>a</sup>	0,46 $\pm$ 0,14 <sup>a</sup>	0,21 $\pm$ 0,13 <sup>c</sup>
Sobrevivência	90 $\pm$ 0,01% <sup>b</sup>	82 $\pm$ 0,05% <sup>c</sup>	100 $\pm$ 0,00% <sup>a</sup>	100 $\pm$ 0,00% <sup>a</sup>

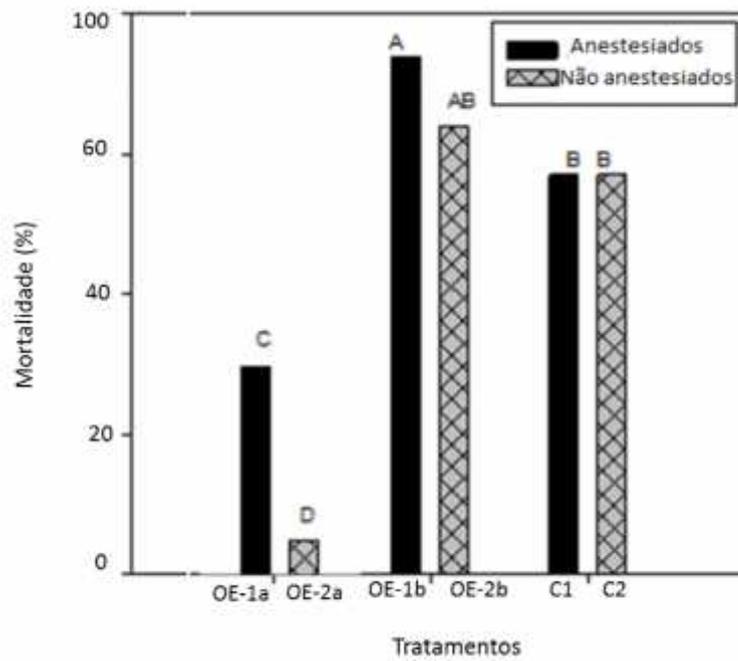
OD: oxigênio dissolvido; TAN: amônia total. Diferentes letras na mesma linha indicam diferenças significativas entre os tratamentos.

## **Figuras**

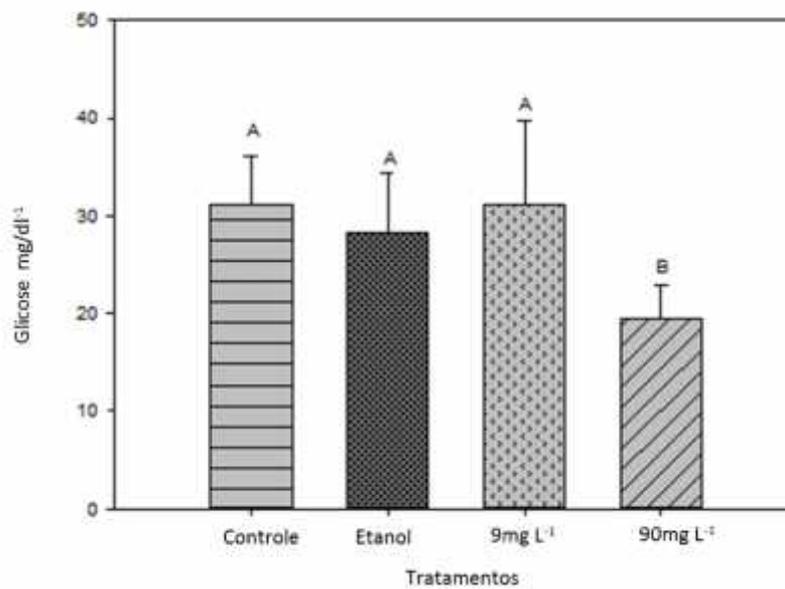
**Fig. 1** Valores de mortalidade para o teste de estresse com juvenis do camarão *L. vannamei* submetido aos tratamentos: controle (água do mar pura), 252mg L<sup>-1</sup> de *C. lemon* e 900mg L<sup>-1</sup> de *E. globulus*. Diferentes letras indicam diferenças significativas entre os tratamentos (ANOVA; Tukey, p <0,05).

**Fig. 2** Níveis de glicose na hemolinfa para camarões, *L. vannamei*, após o transporte de 12h nos tratamentos: controle (água do mar pura), etanol, 9mg L<sup>-1</sup> e 90mg L<sup>-1</sup> de *E. globulus*. Diferentes letras indicam diferenças significativas entre os tratamentos (ANOVA; Tukey, p <0,05).

**Fig 3.**



**Fig 4.**



## Conclusão

O presente trabalho demonstra a eficácia da benzocaína, mentol, *C. lemom*, *C. sinensis*, *E. globulus* na sedação e anestesia do camarão branco *L. vannamei*. Todos os anestésicos foram eficazes ao induzir estágio de sedação em *L. vannamei*, além de não causarem mortalidades nos testes de indução. O mentol não é indicado como anestésico para o camarão branco, por demonstrar causar irritação e desconforto no camarão branco. As concentrações de 400 e 500mg L<sup>-1</sup> de benzocaína podem ser indicados para procedimentos de longa duração que necessitem que os animais permaneçam anestesiados após retirados da solução anestésica. Os óleos essenciais de *C. lemom*, *C. sinensis*, *E. globulus* apresentaram tempos de recuperação menores, sugerindo que são mais adequados para o desenvolvimento de anestésicos. Para testes de indução são indicadas a concentrações 300mg L<sup>-1</sup> de benzocaina, 84mg L<sup>-1</sup> de *C. sinensis*, 168mg L<sup>-1</sup> de *C. lemom* e 450 ou 900mg L<sup>-1</sup> de *E. globulus*, cujos tempos ficaram dentro do determinado para um anestésico seguro. Os óleos essenciais de *C. lemom*, *C. sinensis*, *E. globulus* apresentaram tempos de recuperação menores, sugerindo que são mais adequados para o desenvolvimento de anestésicos. Além disso, 90mg L<sup>-1</sup> de *E. globulus* pode ser utilizado no transporte de camarões, melhorando a qualidade e sobrevivência durante e após o transporte. Dessa forma, a utilização de anestésicos pode ser eficiente na diminuição do estresse no manejo e transporte do *L. vannamei*, podendo ser utilizado futuramente na pesquisa científica em atividades que envolvam o bem-estar e a eutanásia de animais invertebrados, como os camarões.