



**Universidade Federal do Oeste do Pará  
Pró-reitoria de Pesquisa, Pós-graduação e Inovação Tecnológica  
Instituto de Ciências e Tecnologia das Águas –ICTA  
Programa de Pós-Graduação em Recursos Aquáticos Continentais Amazônicos**

**EFEITO DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown, NO TRANSPORTE  
SIMULADO DE ALEVINOS DE TAMBAQUI (*Colossoma macropomum*) NA REGIÃO  
OESTE DO PARÁ.**

**RODRIGO NUMERIANO DE SOUZA**

**Santarém, Pará  
Outubro 2014**

**RODRIGO NUMERIANO DE SOUZA**

**EFEITO DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown, NO TRANSPORTE SIMULADO DE ALEVINOS DE TAMBAQUI (*Colossoma macropomum*) NA REGIÃO OESTE DO PARÁ.**

Orientadora: Profa. Dra. Lenise Vargas Flores da Silva

Dissertação apresentada à coordenadoria do PPGRACAM da Universidade Federal do Oeste do Pará para obtenção do título de Mestre em Recursos Aquáticos Continentais Amazônicos.

**Linha de pesquisa:** Ecofisiologia de organismos aquáticos

**Santarém, Pará  
Outubro, 2014**

**BANCA JULGADORA**

Nome do Autor: SOUZA, Rodrigo Numeriano de

Título: **EFEITO DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown, NO TRANSPORTE SIMULADO DE ALEVINOS DE TAMBAQUI (*Colossoma macropomum*) NA REGIÃO OESTE DO PARÁ.**

Dissertação apresentada à coordenadoria do PP-GRACAM da Universidade Federal do Oeste do Pará para obtenção do título de Mestre em Recursos Aquáticos Continentais Amazônicos.

Data da aprovação: 28/08/2014

**Banca Julgadora**

\_\_\_\_\_  
Orientador e Presidente  
Prof.a.Dra. Lenise Vargas Flores da Silva  
Professora da Universidade Federal do Oeste do Pará-UFOPA

\_\_\_\_\_  
Membro Titular  
Prof. Dr. Keid Nolan Silva Sousa  
ICTA/Universidade Federal do Oeste do Pará

\_\_\_\_\_  
Membro Titular  
Prof. Dra. Rosa Helena Veras Mourão  
ICTA/Universidade Federal do Oeste do Pará

\_\_\_\_\_  
Membro Titular  
Prof. Ruy Bessa Lopes  
ICTA/Universidade Federal do Oeste do Pará

**Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)**

**Sistema Integrado de Bibliotecas – SIBI/UFOPA**

**S725e Sousa, Rodrigo Numeriano**  
**Efeito do óleo essencial de *Lippia alba* ( Mill.) N.E. Brown, no transporte simulado de alevinos de tambaqui (*colossama macropomun*) na região oeste do Pará./ Rodrigo Numeriano de Sousa. – Santarém, 2014.**  
**43f.:30 cm, il.**  
**Inclui bibliografias.**

**Orientadora Lenise Vargas Flores.**  
**Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Oeste do Pará, Instituto de Ciências e Tecnologia das Águas - ICTA, Programa de Pós-Graduação em Recursos Aquáticos Continentais Amazônicos. Santarém, 2014.**

**1. Aquicultura. 2. Transporte. 3. Alevino. 4. Tambaqui. 5. Anestésico. I. Flores, Lenise Vargas, orient., II. Título.**

**CDD: 23 ed.338.37142**

**Bibliotecário - Documentalista: Eliete Sousa – CRB/2 1101**

**Sinopse:**

Estudou-se o efeito do uso de óleo essencial de *Lippia alba* no transporte simulado de alevinos de tambaqui, avaliando a sobrevivência e os parâmetros físico-químicos da água no transporte prolongado.

**Palavra-chave:** Aquicultura, Transporte, Alevino, Tambaqui, Anestésico, *Lippia alba*, Amazônia.

**AGRADECIMENTOS**

*Agradeço primeiramente a Deus, pela oportunidade e por ter conseguido chegar até o fim.*

*A meu pai, minhas duas mães, meus irmãos, cunhados, cunhadas e agregados que compartilham sempre nossos momentos.*

*A meu avô João, minha avó Luiza, e todos da família paraibana.*

*Ao IBAMA pela oportunidade.*

*A SEPaQ, pela disponibilização dos alevinos e do local da pesquisa, em especial ao Sr. Zacarias e aos ensacadores oficiais.*

*Ao Laboratório De Bioprospecção E Biologia Experimental da Universidade Federal do Oeste do Pará (UFOPA) em especial a Rosa Helena Veras Mourão por tornar possível a execução da pesquisa.*

*A minha orientadora Dra. Lenise Vargas Flores pela oportunidade, paciência e confiança.*

*Aos meus amigos do IBAMA e da UFOPA que acreditaram sempre e não me fizeram desistir.*

## PREFÁCIO

Este trabalho está disposto em um capítulo (artigo), seguindo o formato alternativo proposto pelas normas para apresentação de trabalho de conclusão do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia e da Universidade Federal do Oeste do Pará (UFOPA) para turma de mestrado de 2012. O capítulo é intitulado “EFEITO DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown, NO TRANSPORTE SIMULADO DE ALEVINOS DE TAMBACUI (*Colossoma macropomum*) NA REGIÃO OESTE DO PARÁ”. A formatação foi baseada nas normas do periódico *Acta Scientiarum*, para o qual será submetido.

## RESUMO

O objetivo do estudo foi avaliar o potencial do óleo essencial de *Lippia alba* como aditivo no transporte simulado de alevinos de tambaqui (*Colosoma macropomum*), observando a sobrevivência e o comportamento dos parâmetros físico químicos da água. O transporte simulado foi realizado por 17h em sistema fechado (sacos plásticos) e as concentrações utilizadas do óleo essencial foram 5 e 20  $\mu\text{L.L}^{-1}$ . Foram avaliados ainda três tratamentos controles: Água pura ( $C_{\text{água}}$ ); água + álcool ( $C_{\text{Ag+Al}}$ ) e terramicina + sal ( $C_{\text{T+sal}}$ ). A densidade de estocagem utilizada foi de 105 peixes.L<sup>-1</sup> ou 117.6 g.L<sup>-1</sup> e cada tratamento contou com 3 repetições cada. Os parâmetros físico-químicos da água (pH, temperatura, oxigênio dissolvido e condutividade) foram aferidos com auxílio de sonda multiparâmetro. A sobrevivência foi calculata contabilizando o número total de vivos e mortos após 30min de aclimatação em água corrente. A sobrevivência em todos os tratamentos foi satisfatória, sendo os maiores valores encontrados nos tratamentos LA<sub>[20]</sub> e C<sub>T+sal</sub> (99.06% e 99.34% respectivamente). A menor sobrevivência foi encontrada no tratamento LA<sub>[05]</sub> (90.14%). Em relação ao oxigênio, o tratamento C<sub>T+sal</sub> foi o que apresentou piores resultados ( $1.21 \pm 0.63 \text{ mg.L}^{-1}$ ). Os tratamentos com óleo essencial obtiveram resultados satisfatórios de oxigênio dissolvido, no LA<sub>[05]</sub> obteve-se o valor de  $4.03 \pm 0.31 \text{ mg.L}^{-1}$  e no LA<sub>[20]</sub>  $3.01 \pm 0.44 \text{ mg.L}^{-1}$ . Os valores de pH se encontraram dentro da faixa de conforto para a espécie em todos os tratamentos. O uso do óleo essencial de *L. alba* na concentração de 20  $\mu\text{L.L}^{-1}$  é eficaz no transporte de alevinos de tambaqui, resultando em altas taxas de sobrevivência e manutenção dos níveis de oxigênio dissolvido.

**Palavras-chave:** Aquicultura, Transporte, Alevino, Tambaqui, Anestésico, *Lippia alba*, Amazônia.

## ABSTRACT

The aim of the study was to evaluate the potential of the essential oil of *Lippia alba* as an additive in the simulated transport of tambaqui fingerlings (*Colosoma macropomum*), noting the survival and behavior of physical-chemical parameters of the water. The simulated transport was performed for 17h in closed system (plastic bags). Two essential oil concentrations were used: 5 and 20  $\mu\text{L.L}^{-1}$  and three control treatments were evaluated: Pure water ( $C_{\text{água}}$ ); water + alcohol ( $C_{\text{Ag + Al}}$ ) and terramycin + salt ( $C_{\text{T + sal}}$ ). The stocking density used was 105 peixes.L<sup>-1</sup> or 117.6 gL<sup>-1</sup> and each treatment had 3 replicates. Physico-chemical parameters (pH, temperature, conductivity and dissolved oxygen) were measured with the aid of multiparameter probe. Survival was calculated counting the total number of live and dead fishes after 30min of acclimation in tap water. Survival in all treatments were satisfactory, with the highest values found in LA [20] treatment and  $C_{\text{T + sal}}$  (99.06% and 99.34% respectively). The lowest survival rate was found in the LA [05] treatment (90.14%). In relation to oxygen, treatment  $C_{\text{T + sal}}$  showed the worst results ( $1.21 \pm 0.63 \text{ mg.l}^{-1}$ ). The treatments with essential oil obtained satisfactory results of dissolved oxygen. In the LA [05] treatment the obtained value was  $4.03 \pm 0.31 \text{ mg.L}^{-1}$  and LA [20] was  $3.01 \pm 0.44 \text{ mg.l}^{-1}$ . The pH values were within the comfort range for the species in all treatments. The use of the essential oil of *L. alba* in the concentration of 20 -  $\mu\text{L.L}^{-1}$  is effective in the transport of tambaqui fish fry, resulting in high rates of survival and maintenance of dissolved oxygen levels.

**Key-words:** Aquaculture, Transport, Tambaqui, Anaesthetic, *Lippia alba*, Amazon

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO GERAL.....</b>	<b>12</b>
<b>2. OBJETIVOS.....</b>	<b>15</b>
2.1 Geral.....	15
2.2 Especificos.....	15
<b>3. CAPÍTULO 1 - EFEITO DO ÓLEO ESSENCIAL DE <i>Lippia alba</i> (Mill.) N.E. Brown, NO TRANSPORTE SIMULADO DE ALEVINOS DE TAMBAQUI (<i>Colossoma macropomum</i>) NA REGIÃO OESTE DO PARÁ</b>	
.....	16
<b>3.1 Resumo.....</b>	<b>17</b>
<b>3.2 Introdução.....</b>	<b>18</b>
<b>3.3 Materiais e métodos.....</b>	<b>20</b>
<b>3.3.1 Transporte simulado.....</b>	<b>21</b>
<b>3.3.2 Avaliação dos parâmetros físico-químicos da água.....</b>	<b>21</b>
<b>3.3.3 Análise estatística.....</b>	<b>21</b>
<b>3.4 Resultados.....</b>	<b>22</b>
<b>3.4.1 Parâmetros físico-químicos da água.....</b>	<b>22</b>
<b>3.4.2 Sobrevivência.....</b>	<b>23</b>
<b>3.5 Discussão.....</b>	<b>24</b>
<b>3.5.1 Parâmetros físico-químicos da água.....</b>	<b>24</b>
<b>3.5.2 Sobrevivência.....</b>	<b>25</b>
<b>3.6 Conclusão.....</b>	<b>25</b>
<b>4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>26</b>
<b>5. Anexo I (COMPOSIÇÃO QUÍMICA DA <i>Lippia alba</i> UTILIZADA) .....</b>	<b>31</b>
<b>6. Anexo II (ACEITE DO CEP DA UNIVERSIDADE DO ESTADO DO PARÁ...)</b>	<b>33</b>
<b>7. Anexo III (INSTRUÇÕES DO PERIÓDICO PARA SUBMISSÃO DOS ARTIGOS.....)</b>	<b>34</b>

**LISTA DE FIGURAS**

<b>Figura 1</b> - Comportamento dos parâmetros: A- temperatura (°C); B- oxigênio (mg.L <sup>-1</sup> ); C- pH e D- condutividade (μS.Cm <sup>-1</sup> ) após o transporte simulado de 17h de duração .....	<b>23</b>
<b>Figura 2</b> - taxa de sobrevivência (%) nos tratamentos após transporte simulado de 17hrs de duração .....	<b>24</b>

**LISTA DE TABELAS**

<b>Tabela 1</b> - valores médios da sobrevivência e dos parâmetros físico químicos da água após o transporte simulado com duração de 17hrs .....	<b>22</b>
--	-----------

## 1. INTRODUÇÃO GERAL

Segundo a FAO (2010) a produção pesqueira mundial atual é de 146 milhões de toneladas anuais e até 2030 a demanda aumentará em 27 milhões de toneladas/ano, porém, a produção oriunda da pesca extrativa encontra-se estagnada, devendo essa demanda ser suprida pela produção aquícola. No Brasil, a pesca extrativa foi responsável por capturar 785 mil toneladas em 2010, enquanto que a produção aquícola foi de 480 mil toneladas, tendo o cultivo de águas continentais crescido cerca de 17% de 2009 para 2010 (MPA, 2010).

No Brasil, a principal atividade de aquicultura é o cultivo de peixes, favorecido por diversos fatores como disponibilidade de água doce, já que possuímos 12% das reservas mundiais, grandes extensões de terra disponíveis, clima favorável e mão de obra abundante (Bernardino, 2001). O crescimento da aquicultura é resultado ainda da melhoria nas práticas de manejo como biometria, análises patológicas, implante hormonal, vacinação, manejo, captura e transporte, porém há prejuízos econômicos em função da interferência dessas práticas no desempenho desses peixes e também pela mortalidade decorrente das mesmas (Barton, 2000).

Algumas práticas de manejo em peixes resultam numa exposição à fatores estressantes como manuseio, confinamento e transporte, e procedimentos que podem ser dolorosos, como vacinação, coleta de sangue e procedimentos cirúrgicos (Kiessling et al., 2009). Esse estresse provoca uma reação fisiológica adaptativa, que ocorre rapidamente para garantir a saúde e sobrevivência desses indivíduos (Ashley, 2007). Porém, quando esses fatores são intensos, a resposta ao estresse pode resultar em doenças e mortalidade (Iwama et al., 2004), que pode chegar até 80% nas práticas que envolvem o transporte como captura, manuseio, confinamento e o próprio transporte (Okamura et al., 2007).

Para que o transporte seja realizado com sucesso e tenha resultados otimizados, ele deve ser realizado na maior densidade possível, menor volume de água necessário, não deve haver mortalidade, a qualidade da água deve ser mantida e não deve ocorrer estresse (Grottum et al., 1997). Porém, ainda ocorrem prejuízos econômicos devido a mortalidade, já que os peixes são transportados geralmente em fases nas quais encontram-se sensíveis (larvas, pós-larvas ou alevinos (Okamura et al., 2007), sobretudo na Amazônia, onde o transporte de peixes envolve o uso de sacos plásticos e períodos prolongados de transporte devido à esse ser realizado por meio hidroviário, limitando o suprimento de oxigênio e aumentando os níveis de amônia e dióxido de carbono (Gomes et al., 1999; 2006a, b; Golombieski et al., 2003; Carneiro et al 2009).

Algumas técnicas vêm sendo utilizadas para diminuir a mortalidade durante o transporte, como a utilização de gelo, que baixa o metabolismo dos peixes devido a baixa na temperatura da

água, assim como o sal, que reduz o estresse no transporte devido a sua capacidade de igualar o gradiente osmótico da água e do plasma dos peixes reduzindo a difusão de íons para a água (Gomes et al., 2003). Apesar do baixo custo e alta acessibilidade do sal de cozinha e gelo, é necessário que se descubram novas substâncias que possam ser utilizadas para otimizar o transporte de larvas.

Os anestésicos são substâncias que também reduzem o impacto dessas práticas, ocasionando perda de mobilidade dos peixes e de seus reflexos através do impedimento da condução de impulsos nervosos. Sua utilização pode reduzir o consumo de oxigênio e excreção de amônia devido à redução do metabolismo e dos estímulos visuais (Wurts, 1995). Para um anestésico ser considerado ideal, esse deve possuir características como permitir um bom tempo de exposição, não atingir mais que três minutos para a indução anestésica e mais de cinco minutos para recuperação, não ser tóxico aos animais, não deixar resíduo após período de depuração, ser acessível e possuir baixo custo (Marking e Meyer, 1985).

No Brasil não há regulamentação do uso de anestésicos em peixes e a única substância recomendada para tal fim pela Food and Drug Administration (FDA) é a MS222 (tricaína metanosulfato) que não é fabricada no país tornando-a assim inviável comercialmente. Apesar de ser o anestésico mais utilizado no mundo, essa substância possui algumas desvantagens como pH muito baixo, acidificando consideravelmente a água causando efeitos fisiológicos indesejáveis (Roubach e Gomes, 2001). O MS222 pode ainda causar problemas olfatórios em peixes (Losey e Hugie 1994) e é considerado cancerígeno (Pirhonen e Schreck, 2003).

A benzocaína (ethyl-p-aminobenzoato), bastante similar ao MS222, é amplamente utilizado no Brasil devido a maior facilidade de acesso e custo efetivo mais baixo. Possui ainda a vantagem de possuir pH neutro, causando menos irritação. Possui boa margem de segurança (Gilderhus e Marking, 1987; Gilderhus, 1989) não possui ação mutagênica (Gontijo et al., 2003), e é facilmente eliminada após o uso (Allen, 1988; Meinertz et al., 1996). Porém a substância possui baixa solubilidade em água, sendo cerca de 250 vezes menos solúvel que o MS222, necessitando de etanol, acetona ou propileno glicol para ser diluído (Burka et al., 1997; Ross e Ross 1999)

Outros compostos químicos vem sendo testados com a mesma finalidade, tais como Quinaldina (2-4-metilquinolina) e fenoxietanol (2-fenoxietanol) porém continuam sendo de difícil acesso e possuem preço proibitivo, custando US\$75,00 por 100g e R\$420,00 por litro respectivamente (Roubach e Gomes, 2001).

Conforme Façanha e Gomes (2005), os óleos essenciais de plantas podem ser uma alternativa viável, diante da dificuldade de obtenção e do preço dos agentes químicos. As

pesquisas então tem se voltado para a descoberta de substâncias naturais que possam ser utilizadas com esse fim, como o óleo de cravo e o mentol, que já são produzidos no Brasil.

O mentol é um óleo essencial extraído de plantas do gênero *Mentha* e de fácil obtenção, podendo ser encontrado facilmente em farmácias de manipulação. Possui a desvantagem de causar irritação nos peixes, fazendo-os reagir violentamente (Roubach e Gomes, 2001). Sua utilização foi testada em tambaqui (*Colossoma macropomum*,) chegando-se a uma concentração ideal de 150mg/l para anestesia profunda e 100mg/l para finalidade de biometria (Façanha e Gomes, 2005).

O óleo de cravo é um composto fenólico destilado de 4 espécies de cravo e seu principal composto é o eugenol, encontrado na proporção de 70 a 95% do óleo (Mazzafera, 2003). Pesquisas revelam que o composto é eficaz em piavuçu (*Leporinus macrocephalus*) encontrando-se uma concentração ideal de 37,5ml/l para anestesia profunda (Vidal et al., 2007). Para a tilápia do nilo (*Oreochromis niloticus*) as concentrações ideais foram 50 e 75mg/l (Vidal et al., 2008). Em lambari (*Astyanax altiparanae*) a melhor concentração foi 50mg/l (Pereira-da-Silva et al., 2009). O óleo de cravo é considerado seguro para humanos, animais e meio ambiente, além de provocar rápida indução anestésica (Woody et al., 2002; Hajek et al., 2006). Porém a substância possui a desvantagem da recuperação dos peixes ser até 10 vezes mais lenta que o anestésico MS222, possuindo assim uma menor margem de segurança (Okamoto et al., 2009).

Dentre as espécies vegetais que vêm sendo pesquisadas, o gênero *Lippia* pode ser destacado. Trata-se de um gênero da família Verbenaceae, que possui cerca de 200 espécies distribuídas principalmente na América do Sul e central além da África tropical (Terblanche e Kornelius, 1996), possuindo o Brasil de 70-75% de todas as espécies conhecidas (Vicinni et al., 2006). Os compostos majoritários do óleo da *L. alba* são o linalol, o citral, o limoneno e a carvona. Tais compostos variam qualitativamente e quantitativamente de acordo com fatores geográficos e climáticos (Aguiar et al., 2008).

Algumas espécies de *Lippia* demonstram ação sedativa sendo a *Lippia alba* utilizada com esse fim na medicina popular. Alguns compostos do óleo dessa espécie demonstraram ser sedativas e relaxantes em camundongos (Vale et al., 1999; Zétola et al., 2002). O óleo essencial da *L. alba* demonstrou poder analgésico (Costa et al., 2002; Viana et al., 1998), anti-inflamatório (Slowing-Barrilas 1992; Viana et al. 1998; Do Vale et al., 2002), anticonvulsante (Viana et al. 2000), antiviral (Abad et al., 1997) e calmante (Do Vale et al., 2002; Zetola et al., 2002). Em peixes, esse óleo se mostrou eficaz como anestésico em jundiá (Cunha et al., 2010; Heldwein et al., 2012), inclusive no seu transporte nas concentrações de 10 e 20  $\mu\text{L.L}^{-1}$  (Becker et al., 2012).

Na região amazônica, o tambaqui (*Colossoma macropomum*) é cultivado em seis dos sete estados (Val *et al.*, 2000). Trata-se de um peixe da Classe Actinopterygii, Ordem Characiformes, Família Characidae e Subfamília Serrasalminae. Distribui-se pelos rios da bacia do Rio Amazonas e Orinoco, e possui carne bastante apreciada pela população local. Dentre as características que tornam a espécie amplamente cultivada estão a capacidade de adaptar-se à alterações ambientais, boa aceitação de ração, boa conversão alimentar e rápido crescimento (Val e Honczaryck, 1995; Araújo-Lima e Goulding, 1998).

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1 Geral**

Avaliar a atividade anestésica e/ou sedativa do óleo essencial de *Lippia alba* em alevinos de tambaqui (*Colossoma macropomum*), submetidos ao transporte simulado, no oeste do Pará.

### **2.2 Específicos**

- Avaliar a sobrevivência dos alevinos submetidos à duas concentrações de óleo essencial de *Lippia alba* no transporte simulado;
- Avaliar o consumo de oxigênio e comportamento dos parâmetros físico-químicos da água no transporte simulado de alevinos de tambaqui submetidos à duas concentrações de óleo essencial de *Lippia alba*.

### 3. CAPÍTULO 1

**EFEITO DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown, NO TRANSPORTE SIMULADO DE ALEVINOS DE TAMBACUI (*Colossoma macropomum*) NA REGIÃO OESTE DO PARÁ.**

**Rodrigo Numeriano de Souza<sup>1</sup>, Lenise Vargas Flores<sup>1</sup>,**

<sup>1</sup>Programa de Pós-Graduação em Recursos Aquáticos Continentais Amazônicos, 68040-050 Santarém, Estado do Pará, Brasil.

## RESUMO

O objetivo do estudo foi avaliar o potencial do óleo essencial de *Lippia alba* como aditivo no transporte simulado de alevinos de tambaqui (*Colosoma macropomum*), observando a sobrevivência e o comportamento dos parâmetros físico químicos da água. O transporte simulado foi realizado por 17h em sistema fechado (sacos plásticos) e as concentrações utilizadas do óleo essencial foram 5 e 20  $\mu\text{L.L}^{-1}$ . Foram avaliados ainda três tratamentos controles: Água pura ( $C_{\text{água}}$ ); água + álcool ( $C_{\text{Ag+Al}}$ ) e terramicina + sal ( $C_{\text{T+sal}}$ ). A densidade de estocagem utilizada foi de 105 peixes. $\text{L}^{-1}$  ou 117.6  $\text{g.L}^{-1}$  e cada tratamento contou com 3 repetições cada. Os parâmetros físico-químicos da água (pH, temperatura, oxigênio dissolvido e condutividade) foram aferidos com auxílio de sonda multiparâmetro. A sobrevivência foi calculada contabilizando o número total de vivos e mortos após 30min de aclimação em água corrente. Os dados onde a distribuição não seguiu padrão normal foram submetidos ao teste de KRUSKAL-WALLIS ao nível de significância de 0,05%. Os que seguiram distribuição normal foram submetidos a uma ANOVA (0,05%) seguida de teste de TUKEY para comparação das médias (0,05%). A sobrevivência em todos os tratamentos foram satisfatórias, sendo os maiores valores encontrados nos tratamentos  $\text{LA}_{[20]}$  e  $C_{\text{T+sal}}$  (99.06% e 99.34% respectivamente). A menor sobrevivência foi encontrada no tratamento  $\text{LA}_{[05]}$  (90.14%). Em relação ao oxigênio, o tratamento  $C_{\text{T+sal}}$  foi o que apresentou piores resultados ( $1.21 \pm 0.63 \text{ mg.L}^{-1}$ ). Os tratamentos com óleo essencial obtiveram resultados satisfatórios de oxigênio dissolvido, no  $\text{LA}_{[05]}$  obteve-se o valor de  $4.03 \pm 0.31 \text{ mg.L}^{-1}$  e no  $\text{LA}_{[20]}$   $3.01 \pm 0.44 \text{ mg.L}^{-1}$ . Os valores de pH se encontraram dentro da faixa de conforto para a espécie em todos os tratamentos. O uso do óleo essencial de *L. alba* na concentração de 20  $\mu\text{L.L}^{-1}$  é eficaz no transporte de alevinos de tambaqui, resultando em altas taxas de sobrevivência e manutenção dos níveis de oxigênio dissolvido.

**Palavras-chave:** Aquicultura, Transporte, Alevino, Tambaqui, Anestésico, *Lippia alba*, Amazônia.

## INTRODUÇÃO

O transporte de peixes é uma das práticas de manejo que resultam numa exposição à fatores estressantes como manuseio, confinamento e transporte propriamente dito (Kiessling et al., 2009). Na Amazônia, o transporte de peixes envolve o uso de sacos plásticos e períodos prolongados de transporte devido à esse ser realizado por meio hidroviário, limitando o suprimento de oxigênio e aumentando os níveis de amônia e dióxido de carbono (Gomes et al., 1999, 2006a, b; Golombieski et al., 2003; Carneiro et al., 2009).

Esses fatores estressantes provocam uma reação fisiológica adaptativa, que ocorre rapidamente para garantir a saúde e sobrevivência desses indivíduos (Ashley, 2007). Porém, quando esses fatores são intensos, a resposta ao stresse pode resultar em doenças e mortalidade (Iwama et al., 2004), que pode chegar até 80% nas práticas que envolvem o transporte (Okamura et al., 2007).

Para que o transporte seja realizado com sucesso e tenha resultados otimizados, ele deve ser realizado na maior densidade possível, menor volume de água necessário, não deve haver mortalidade, a qualidade da água deve ser mantida e não deve ocorrer estresse (Grottum et al., 1997). Porém, ainda ocorrem prejuízos econômicos devido a mortalidade, já que os peixes são transportados geralmente em fases nas quais encontram-se sensíveis (larvas, pós-larvas ou alevinos (Okamura et al., 2007).

Para diminuir essas perdas, algumas técnicas vêm sendo aprimoradas, como a utilização de gelo, que baixa o metabolismo dos peixes devido a baixa na temperatura da água, e o sal, que reduz o stress no transporte devido a sua capacidade de igualar o gradiente osmótico da água e do plasma dos peixes reduzindo a difusão de íons para a água (Gomes et al., 2003). Apesar do baixo custo e alta acessibilidade dessas técnicas, é necessário que se descubram novas substâncias que possam ser utilizadas para otimizar o transporte de larvas.

Os anestésicos são substâncias que podem amenizar o impacto dessas práticas, visto que sua utilização pode reduzir o consumo de oxigênio e excreção de amônia devido à redução do metabolismo e dos estímulos visuais (Wurts, 1995). No Brasil não há regulamentação do uso de anestésicos em peixes e a única substância recomendada para tal fim pela Food and Drug Administration (FDA) é a MS222 (triclaína metanosulfato) que não é fabricada no país tornando-a assim inviável comercialmente.

Outros anestésicos como a benzocaína (ethyl-p-aminobenzoato), bastante similar ao MS222, é amplamente utilizado no Brasil devido a maior facilidade de acesso e custo efetivo

mais baixo, tendo se mostrado eficaz para a o tambaqui (Gomes et al., 2001). A Quinaldina (2-4-metilquinolina) e fenoxietanol (2-fenoxietanol) são também utilizados, porém continuam sendo de difícil acesso e possuem preço proibitivo, custando US\$75,00 por 100g e R\$420,00 por litro respectivamente (Roubach e Gomes., 2001).

Os óleos essenciais de plantas podem ser uma alternativa viável, diante da dificuldade de obtenção e do preço dos agentes químicos (Façanha e Gomes, 2005). Dentre os anestésicos extraídos de plantas, destaca-se o mentol, extraído de plantas do gênero *Mentha* e de fácil obtenção, podendo ser encontrado facilmente em farmácias de manipulação. O composto foi testado com sucesso em tambaqui (*Colossoma macropomum*) na concentração de 150mg/l para anestesia profunda e 100mg/l para finalidade de biometria (Façanha e Gomes 2005).

O óleo de cravo, também de origem vegetal, é considerado seguro para humanos, animais e meio ambiente, além de provocar rápida indução anestésica (Woody et al., 2002; Hajek et al., 2006). O composto mostrou-se eficaz em piavuçu (*Leporinus macrocephalus*) na concentração de 37,5ml/l para anestesia profunda (Vidal et al., 2007). Para a tilápia do nilo (*Oreochromis niloticus*) as concentrações ideais foram 50 e 75mg/l (Vidal et al., 2008). Em lambari (*Astyanax altiparanae*) a melhor concentração foi 50mg/l (Pereira-da-Silva et al., 2009). Apesar de eficaz, a substância possui a desvantagem da recuperação dos peixes ser até 10 vezes mais lenta que o anestésico MS222, possuindo assim uma menor margem de segurança (Okamoto et al., 2009).

Dentre as espécies vegetais que vêm sendo pesquisadas, o gênero *Lippia* pode ser destacado. Trata-se de um gênero da família Verbenaceae, que possui cerca de 200 espécies distribuídas principalmente na América do Sul e central além da África tropical (Terblanche e Kornelius, 1996), possuindo o Brasil de 70-75% de todas as espécies conhecidas (Viccini *et al.*, 2006). Os compostos majoritários do óleo da *L. alba* são o linalol, o citral, o limoneno e a carvona. Tais compostos variam qualitativamente e quantitativamente de acordo com fatores geográficos e climáticos (Aguiar *et al.*, 2008).

Algumas espécies de *Lippia* demonstram ação sedativa sendo a *Lippia alba* utilizada com esse fim na medicina popular. Alguns compostos do óleo dessa espécie demonstraram ser sedativas e relaxantes em camundongos (Vale et al., 1999; Zétola et al., 2002). O óleo essencial da *L. alba* demonstrou poder analgésico (Costa *et al.*, 1989; Viana *et al.*, 1998), anti-inflamatório (Slowing-Barrilas 1992; Viana *et al.*, 1998; Do Vale *et al.*, 2002), anticonvulsivante (Viana *et al.*, 2000), antiviral (Abad *et al.*, 1997) e calmante (Do Vale *et al.*, 2002; Zetola *et al.*, 2002). Em peixes, esse óleo se mostrou eficaz como anestésico em jundiá (Cunha et al., 2010; Heldwein et al., 2012), inclusive no seu transporte nas concentrações de 10 e 20  $\mu\text{L.L}^{-1}$  (Becker et al., 2012).

Na região amazônica, o tambaqui (*Colossoma macropomum*) é cultivado em seis dos sete

estados (Val *et al.*, 2000). Trata-se de um peixe da Classe Actinopterygii, Ordem Characiformes, Família Characidae e Subfamília Serrasalminae. Distribui-se pelos rios da bacia do Rio Amazonas e Orinoco, e possui carne bastante apreciada pela população local. Dentre as características que tornam a espécie amplamente cultivada estão a capacidade de adaptar-se à alterações ambientais, boa aceitação de ração, boa conversão alimentar e rápido crescimento (Val e Honeczaryck, 1995; Araújo-Lima e Goulding, 1998).

O objetivo do estudo foi avaliar a eficácia do óleo essencial de *Lippia alba* como aditivo no transporte simulado de alevinos de tambaqui (*Colosoma macropomum*), observando a sobrevivência e os parâmetros físico químicos da água.

## MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa faz parte de um macro-projeto intitulado "Produtos naturais como anestésicos em peixes da região oeste do Pará: Caracterização de parâmetros fisiológicos, bioquímicos e sensoriais" o qual foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade do Estado do Pará em 27/06/2012.

O experimento foi realizado em Maio de 2014 na Estação de Produção de Peixes UA-GRO - Santa Rosa/SEPAq - Santarém-PA. O óleo essencial de LA foi disponibilizado pelo Laboratório De Bioprospecção E Biologia Experimental da Universidade Federal do Oeste do Pará (UFOPA), o óleo essencial utilizado possui como composto majoritário o citral, conforme tabela 2 em anexo..

Foram utilizados no total 1575 alevinos de tambaqui com peso médio  $1.12 \pm 0.28$  g. Os peixes foram obtidos da mesma estação experimental, sendo capturados dos tanques de alevinagem com auxílio de rede e acondicionados em caixa d'água de fibra com capacidade de 1.000L para depuração pré transporte por 24h.

Os alevinos foram acondicionados na densidade de 105 peixes.L<sup>-1</sup> ou 117.6 g.L<sup>-1</sup>. Os tratamentos avaliados foram óleo essencial de *Lippia alba* nas concentrações de 5 e 20 µL.L<sup>-1</sup> (LA<sub>[05]</sub> e LA<sub>[20]</sub> respectivamente) e 3 tratamentos controle sendo eles: Água pura (C<sub>água</sub>); água + álcool (C<sub>Ag+Al</sub>) e terramicina + sal (C<sub>T+sal</sub>). No tratamento C<sub>Ag+Al</sub> foi adicionado álcool na mesma quantidade utilizada na diluição do óleo na maior concentração (20µL.L<sup>-1</sup>), ja que devido á baixa solubilidade do óleo na água, esse foi diluído em álcool na proporção de 1:10 antes de ser adicionado à água. No tratamento C<sub>T+sal</sub> foram adicionados 14ml de uma solução mãe composta de 2L de água, 50g de sal e 0.5g de terramicina, tratamento usual realizado no procedimento de transporte da estação.

Cada unidade experimental foi composta por um saco plástico de volume total 7L, contendo 1L de água e 2/3 do volume completo com oxigênio puro. Os peixes foram contabilizados na densidade utilizada e separados em 15 baldes flutuantes dispostos em caixas d'água, permitindo circulação de água no interior dos recipientes até o momento do ensacamento.

O ensacamento foi realizado em série, adicionado-se 1L de água em cada saco, introduzindo o aditivo de cada tratamento (óleo, solução de sal + terramicina e álcool) e por fim os peixes. Foi utilizado oxigênio puro para inflar os sacos e ligas de borracha para amarrá-los.

### **TRANSPORTE SIMULADO**

Após o ensacamento, os 15 sacos foram acondicionados em uma sala escura para simular o efeito das caixas de papelão que são utilizados no transporte. Esses permaneceram em repouso por 17h sendo avaliados a cada 2 horas em relação ao comportamento dos alevinos nos sacos. Após o tempo de transporte os sacos foram abertos na mesma ordem de ensacamento para que o tempo de transporte fosse considerado o mesmo para todas as unidades experimentais.

### **AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS**

Foram aferidos os parâmetros físico-químicos depois do transporte, tais como pH, temperatura (°C), oxigênio dissolvido ( $\text{mg.L}^{-1}$ ) e condutividade ( $\mu\text{S/cm}^{-1}$ ) com auxílio de aparelho multiparâmetro marca YSI. Após abertura dos sacos e aferição dos parâmetros, os peixes foram introduzidos em baldes flutuantes imersos em caixa d'água com fluxo de água aberto para reaclimação do transporte e após 30min foram contabilizados o número de vivos e mortos de cada unidade experimental para o cálculo da taxa de sobrevivência.

#### **3.3.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA**

Os dados referentes às taxas de sobrevivência e temperatura não seguiram distribuição normal, sendo aplicado o teste de KRUSKAL-WALLIS ao nível de significância de 0,05%. Os dados referentes aos outros parâmetros físico-químicos foram submetidos ao teste de normalidade e por terem distribuição normal foram submetidos a uma ANOVA (0,05%) e quando houve diferença significativa, essa foi verificada com o teste de TUKEY para comparação das médias (0,05%). Foi utilizado o software ASSISTAT versão 7.7 para o processamento das análises estatísticas, auxiliado pelo complemento ACTION do Microsoft Excel.

## RESULTADOS

### PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS DA ÁGUA

A temperatura nos tratamentos variou de  $26.63 \pm 0.03^\circ\text{C}$  a  $27.1 \pm 0.00^\circ\text{C}$  respectivamente nos tratamentos  $C_{\text{água}}$  e  $LA_{[20]}$ , havendo diferença significativa entre esses tratamentos. Os demais tratamentos obtiveram comportamento da temperatura semelhante.

Os maiores teores de oxigênio dissolvido foram obtidos nos tratamentos  $LA_{[05]}$  ( $4.03 \pm 0.31 \text{ mg.L}^{-1}$ ) e  $C_{\text{água}}$  ( $3.59 \pm 0.42 \text{ mg.L}^{-1}$ ). Os menores valores foram encontrados em  $C_{T+\text{sal}}$  ( $1.21 \pm 0.63 \text{ mg.L}^{-1}$ ). Os tratamentos  $LA_{[20]}$  e  $C_{\text{Ag+Al}}$  obtiveram valores intermediários aos desses tratamentos.

O menor valor de pH foi encontrado no tratamento  $C_{T+\text{sal}}$  ( $5.73 \pm 0.03$ ) e o maior valor em  $C_{\text{água}}$  ( $6.17 \pm 0.03$ ). O teste de tukey verificou diferença significativa entre esses tratamentos. Os tratamentos  $C_{\text{Ag+Al}}$ ,  $LA_{[20]}$  e  $LA_{[05]}$  obtiveram valores bem próximos e intermediários aos dos outros tratamentos.

A condutividade foi maior no tratamento  $C_{T+\text{sal}}$  ( $1110.00 \pm 22.55 \mu\text{S.Cm}^{-1}$ ) e menor no  $C_{\text{Ag+Al}}$  ( $379.20 \pm 7.14 \mu\text{S.Cm}^{-1}$ ). O alto valor da condutividade no tratamento  $C_{T+\text{sal}}$  o fez diferenciar significativamente dos demais. Os outros 4 tratamentos obtiveram valores próximos de condutividade.

Na tabela 1 e figura 1 estão demonstrados os valores dos parâmetros físico químicos da água e taxa de sobrevivência após o transporte simulado com duração de 17h.

Parâmetro	Tratamentos				
	$C_{\text{Ag+Al}}$	$C_{T+\text{sal}}$	$C_{\text{água}}$	$LA_{[05]}$	$LA_{[20]}$
Sobrevivência (%)	$93.03 \pm 3.36 \text{ a}$	$99.34 \pm 0.66 \text{ a}$	$91.01 \pm 4.50 \text{ a}$	$90.14 \pm 6.91 \text{ a}$	$99.06 \pm 0.54 \text{ a}$
Temperatura ( $^\circ\text{C}$ )	$26.80 \pm 0.00 \text{ ab}$	$27.00 \pm 0.00 \text{ ab}$	$26.63 \pm 0.03 \text{ b}$	$26.90 \pm 0.00 \text{ ab}$	$27.10 \pm 0.00 \text{ a}$
Oxigênio ( $\text{mg.L}^{-1}$ )	$2.37 \pm 0.41 \text{ ab}$	$1.21 \pm 0.63 \text{ b}$	$3.59 \pm 0.42 \text{ a}$	$4.03 \pm 0.31 \text{ a}$	$3.01 \pm 0.44 \text{ ab}$
pH	$5.93 \pm 0.03 \text{ b}$	$5.73 \pm 0.03 \text{ c}$	$6.17 \pm 0.03 \text{ a}$	$6.00 \pm 0.00 \text{ b}$	$5.97 \pm 0.03 \text{ b}$
Condutividade ( $\mu\text{S.Cm}^{-1}$ )	$379.20 \pm 7.14 \text{ b}$	$1110.00 \pm 22.55 \text{ a}$	$435.20 \pm 9.48 \text{ b}$	$445.63 \pm 5.63 \text{ b}$	$397.10 \pm 24.70 \text{ b}$

Tabela 1: Valores médios  $\pm$  DPM da sobrevivência (%), temperatura ( $^\circ\text{C}$ ), oxigênio ( $\text{mg.L}^{-1}$ ), pH e condutividade ( $\mu\text{S.Cm}^{-1}$ ) após o transporte simulado de 17h de duração nos tratamentos  $C_{\text{água}}$  (controle água),  $C_{T+\text{sal}}$  (controle terramicina e sal),  $C_{\text{Ag+Al}}$  (controle água e Álcool),  $LA_{[05]}$  (óleo essencial de *Lipia alba* na concentração  $5 \text{ mg.L}^{-1}$ ) e  $LA_{[20]}$  (óleo essencial de *Lipia alba* na concentração  $20 \text{ mg.L}^{-1}$ ). Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa entre os tratamentos.

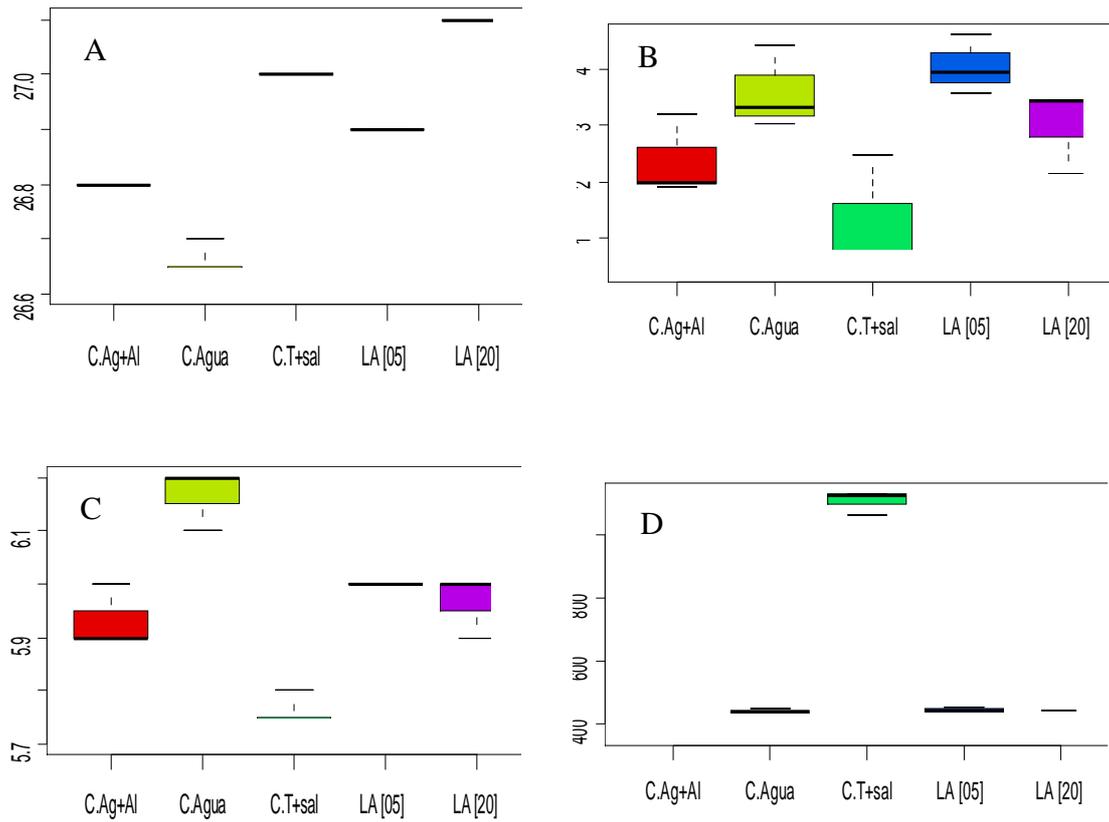


Figura 1: Comportamento dos parâmetros: A- temperatura (°C); B- oxigênio (mg.L<sup>-1</sup>); C- pH e D- condutividade (μS.Cm<sup>-1</sup>) após o transporte simulado de 17h de duração nos tratamentos C<sub>água</sub> (controle água), C<sub>T+sal</sub> (controle terramicina e sal), C<sub>Ag+Al</sub> (controle água e Álcool), LA<sub>[05]</sub> (óleo essencial de *Lipia alba* na concentração 5 mg.L<sup>-1</sup>) e LA<sub>[20]</sub> (óleo essencial de *Lipia alba* na concentração 20 mg.L<sup>-1</sup>).

## SOBREVIVÊNCIA

A taxa de sobrevivência não diferiu significativamente entre os tratamentos. Os valores foram considerados satisfatórios e variaram de 90.14% a 99.34%. Os melhores tratamentos em relação à sobrevivência foram C<sub>T+sal</sub> e LA<sub>[20]</sub>, com taxas superiores a 99% enquanto o menor valor foi encontrado no tratamento LA<sub>[05]</sub>. Os tratamentos C<sub>água</sub> e C<sub>Ag+Al</sub> obtiveram valores intermediários de  $91.01 \pm 4.50$  e  $93.03 \pm 3.36$  respectivamente. A comparação entre os tratamentos pode ser observada na figura 2.

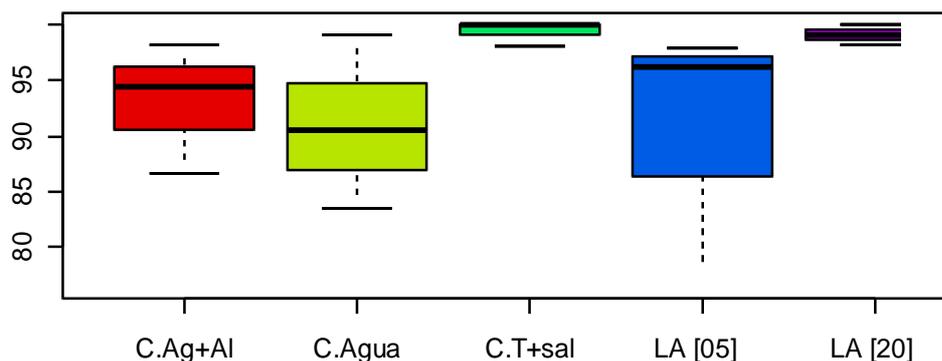


Figura 2: taxa de sobrevivência (%) nos tratamentos após transporte simulado de 17hrs de duração.

## DISCUSSÃO

As pesquisas que vêm sendo desenvolvidas com a utilização de anestésicos no manejo de peixes têm utilizado peixes adultos para testes, e poucos experimentos que envolvem transporte são realizados, tornando escasso os dados a respeito de transporte de alevinos com anestésico.

## PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS DA ÁGUA

A variação na temperatura acusada pelo teste de tukey se deve ao fato da sua variação diária, fazendo com que os tratamentos que foram desensaciados por último obtivessem maiores valores de temperatura, o que ocorreu com o tratamento LA [20], no qual a temperatura final foi 27.10 °C. Todos os valores de temperatura se encontraram dentro da faixa considerada ideal para a espécie (Mendonça, 2007).

O tratamento C<sub>T+sal</sub> ( $1.21 \pm 0.63 \text{ mg.L}^{-1}$ ) foi o único que apresentou valores críticos de oxigênio dissolvido, mostrando não ser seguro em altas densidades ou em transporte por tempo prolongado. O consumo de oxigênio é comum nesse tipo de transporte em sistema fechado utilizando sacos plásticos devido a respiração dos peixes (Berka, 1986). Apesar disso, em todos os tratamentos os valores encontraram-se dentro da faixa ideal para a espécie (Mendonça, 2007).

Nos tratamentos contendo óleo essencial, no de menor concentração (LA [05]) os níveis de oxigênio dissolvido foram maiores ( $4.03 \pm 0.31 \text{ mg.L}^{-1}$ ) do que no LA [20] ( $3.01 \pm 0.44 \text{ mg.L}^{-1}$ ), mostrando que o aumento da concentração do óleo essencial pode ocasionar um possível aumento no consumo de oxigênio. Apesar disso, esses tratamentos obtiveram bons níveis de oxigênio. O menor valor de oxigênio encontrado no tratamento C<sub>Ag+Al</sub> em relação ao tratamento C<sub>água</sub> mostra que a adição de álcool na água resulta num maior consumo de oxigênio. Apesar da

presença de álcool nos tratamentos contendo óleo essencial, a adição do anestésico mostra ter anulado o efeito do aumento no consumo de oxigênio ocasionado pelo álcool, visto que nesses tratamentos os valores de oxigênio se encontraram próximos ao do tratamento com apenas água ( $C_{\text{água}} - 3.59 \pm 0.42 \text{ mg.L}^{-1}$ ).

Em geral os valores de pH obtidos encontraram-se levemente ácidos, o que é considerado normal para as estações de piscicultura na Amazônia (Wood et al., 1998) e se encontraram próximos aos obtidos por Gomes et al., 2003 em transporte de tambaqui. Os valores encontraram-se dentro da faixa de conforto para a espécie, de 4 a 6 (Mendonça, 2007), exceto no tratamento  $C_{\text{água}}$  que obteve valor ligeiramente acima do recomendado. O menor valor de pH encontrado no tratamento  $C_{\text{T+sal}}$  deve-se ao fato da terramicina (*cloridrato* de oxitetraciclina) possuir ácido clorídrico em sua fórmula.

O maior valor da condutividade no tratamento  $C_{\text{T+sal}}$  ( $1110.00 \mu\text{S.Cm}^{-1}$ ) foi claramente influenciado pela adição de sal na água. Analisando apenas os tratamentos contendo óleo essencial observa-se que a maior concentração do óleo resultou num menor valor da condutividade, o que pode estar relacionado ao álcool adicionado nesses tratamentos, visto que o tratamento  $LA_{[20]}$  obteve valor próximo ao tratamento  $C_{\text{Ag+Al}}$ , que possui mesma concentração de álcool enquanto no tratamento  $C_{\text{água}}$  o valor encontrou-se próximo ao do tratamento  $LA_{[05]}$  que possui baixa concentração de álcool.

## **SOBREVIVÊNCIA**

Entre os tratamentos contendo óleo essencial, a menor concentração ( $LA_{[05]}$ ) resultou numa menor taxa de sobrevivência (90.14%), resultando em valores próximos ao do tratamento  $C_{\text{água}}$  contendo apenas água (91.01%), demonstrando essa concentração não ter influenciado na taxa de sobrevivência. A taxa de sobrevivência em todos os tratamentos foi considerada satisfatória e os valores encontraram-se próximos aos obtidos por Gomes et al. 2003 em transporte de tambaqui. A sobrevivência da quase totalidade dos peixes nos tratamentos  $C_{\text{T+sal}}$  e  $LA_{[20]}$  demonstra que esses tratamentos são os mais interessantes para o transporte..

## **CONCLUSÕES**

O uso do óleo essencial de *L. alba* na concentração de  $20 \mu\text{L.L}^{-1}$  é eficaz no transporte de alevinos de tambaqui, resultando em altas taxas de sobrevivência e manutenção dos níveis de oxigênio dissolvido.

#### 4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abad, M.J.; P. Bermejo; A. Villar; S. Sanchez-Palomino & L. Carrasco. Antiviral activity of medicinal plantsextracts. *Phytotherapy Research* 11 (3): 198–202. 1997.
- Aguiar, J.S.; M.C.C.D. Costa; S.C Nascimento & K.X.F.R Sena.. Atividade antimicrobiana de *Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown (Verbenaceae). *Revista Brasileira de Farmacognosia* 18 (3): 436–440. 2008.
- Allen, J. Residues of benzocaine in rainbow trout, largemouth bass, and fish meal. *Progressive Fish-culturist*, v.50, p.59-60, 1988.
- Araújo-Lima, C.; M. Goulding. Os frutos do tabaqui: ecologia, conservação e cultivo na Amazônia. Sociedade Civil Mamirauá, MCT – CNPq. 186 pp. 1998
- Ashley P.J. Fish welfare: current issues in aquaculture. *Appl Anim Behav Sci* 104:199–235. 2007.
- Barton, B.A. Salmonid fishes differ in their cortisol and glucose responses to handling and transport stress. *North American Journal of Aquaculture* 62: 12-18, 2000.
- Becker AG, Parodi TV, Heldwein CG, Zeppenfeld C, Heinzmann BM, Baldisserotto B. Transportation of silver catfish, *Rhamdia quelen*, in water with eugenol and the essential oil of *Lippia alba*. *Fish Physiol Biochem* 38: 789–796. 2012.
- Berka, R. The transport of live fish: a review. Rome: FAO, 1986. 57p. (EIFAC Technical Papers, 48).
- Bernardino, G. Desenvolvimento da Aqüicultura e Meio Ambiente. CEPENOR/IBAMA. Belém. 2001. (mimeo.).
- Burka, J.F.; Hammell, K.L.; Horsberg, T. E.; Johnson, G.R.; Rainnie, D.J.; Speare, D.J.; 1997. Drugs in salmonid aquaculture - a review. *J. Vet. Pharmacol. Ther.* 20, 333349.
- Carneiro, P.C.F.; Urbinati, E.C.; Martins, M.L. Estresse devido ao transporte e à ação da benzocaína em parâmetros hematológicos e população de parasitas em matrinxã, *Brycon cephalus* (TELEOSTEI: CHARACIDAE). In: Carneiro, P.C.F. Estresse provocado pelo transporte e respostas fisiológicas do matrinxã, *Brycon cephalus* (TELEOSTEI: CHARACIDAE). Jaboticabal, São Paulo, 139 p. Tese (Doutorado em Zootecnia), 2009.

Costa, D.C.S.; M.A.Machado; A.N.Campos; L.F.Viccini; P.H.P. Peixoto & F.R.G.Salimena. Diversidade genética em *Lippia* spp. (Verbenaceae) da caatinga do Espinhaço-MG por meio de marcadores moleculares RAPD. In: 48º Congresso Nacional de Genética. 2002. Águas de Lindóia. Anais do Congresso Nacional de Genética. CD-Rom. 2002.

Cunha, M.A., Barros, F.M.C., Garcia, L.O., Veeck, A.P.L., Heinzmann, B.M., Loro, V.L., Emanuelli, T., Baldisserotto, B. Essential oil of *Lippia alba*: a new anesthetic for silver catfish, *Rhamdia quelen*. *Aquaculture* 306, 403–406. 2010.

Do Vale, T.G.; E.C. Furtado; J.G. Santos & G.S.B.Viana. Central effects of citral, myrcene and limonene, constituents of essential oil chemotypes from *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown. *Phytomedicine* 9 (8): 709–714. 2002.

Façanha, M.F.; Gomes, L.C. A eficácia do mentol como anestésico para tambaqui (*Colossoma macropomum*, characiformes: Characidae). *Acta Amazônica*, v. 35, n.1, p. 71-75, 2005.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. The State of World Fisheries and Aquaculture, p. 69. 2010.

Gilderhus, P. A.; Marking, L.L. Comparative efficacy of 16 anesthetic chemicals on rainbow trout. *North American Journal of Fisheries Management*, Bethesda, v. 7, p. 288-292, 1987.

Gilderhus, P.A. Efficacy of benzocaine as an anesthetic for salmonid fishes. *North American Journal of Fisheries Management*, Bethesda, v. 9, p. 150-153, 1989.

Golombieski, J.I. et al. Transport of silver catfish (*Rhamdia quelen*) fingerlings at different times, load densities and temperatures. *Aquaculture*, v.216, p.95-102, 2003.

Gomes LC, Golombieski JI, Chippari-Gomes AR, Baldisserotto B. Effect of the salt in the water for transport on survival and on Na<sup>+</sup> and K<sup>+</sup> levels of silver catfish, *Rhamdia quelen*, fingerlings. *J Appl Aquac* 9:1–9. 1999.

Gomes LC, Araújo-Lima CARM, Chippari-Gomes AR, Roubach R. Transportation of juvenile tambaqui (*Colossoma macropomum*) in a closed system. *Braz J Biol* 66:493–502. 2006a.

Gomes LC, Chagas EC, Brinn RP, Roubach R, Coppati CE, Baldisserotto B. Use of salt during transportation of air breathing pirarucu juveniles (*Arapaima gigas*) in plastic bags. *Aquaculture* 256:521–528. 2006b.

Gontijo, A. et al. Anesthesia of fish with benzocaína does not interfere with comet assays results. *Mutation Research*, v.534, p.165-172, 2003.

Grottum, J. A.; Staurnes, M.; Sigholt, T. Effect of oxygenation, aeration and pH control on water quality and survival of turbot, *Scophthalmus maximus* (L.), kept at high densities during transport. *Aquaculture Research*, Oxford, v. 28, n. 2, p. 159-164, 1997.

Hajek, G.J.; Klyszejko, B.; Dziaman, R. The anaesthetic effect of clove oil on common carp, *Cyprinus carpio* L. *Acta Ichthyologica et Piscatoria*, v. 36, p. 93-97, 2006.

Heldwein CG, Silva LL, Reckziegel P, Barros FMC, Bu'ringer ME, Baldisserotto B, Malmann CA, Schmidt D, Caron BO, Heinzmann BM. Participation of GABAergic system in the anesthetic effect of the essential oil of *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown. *Braz J Med Biol Res* 45(5):436–443. 2012.

Iwama G, Afonso L, Todgham A, Ackerman P, Nakano K. Are hsps suitable for indicating stressed states in fish? *J Exp Biol* 204:15–19. 2004.

Kiessling, A.; Johansson, D.; Zahl, I. H.; Samuelsen, O. B. Pharmacokinetics, plasma cortisol and effectiveness of benzocaine, MS-222 and isoeugenol measured in individual dorsal aorta-cannulated Atlantic salmon (*Salmo salar*) following bath administration. *Aquaculture*, v. 286, n. 3-4, p. 301-308, 2009.

Marking, L. L. and F. P. Meyer. Are better anesthetics needed in fisheries? *Fisheries* 10(6): 2-5. 1985.

Mazzafera, P. Efeito alelopático do extrato alcoólico do cravo-da-índia e eugenol. *Rev. Bras. Bot.*, São Paulo, v. 26, n. 2, p.231-238, 2003.

Meinertz, J. et al. Pharmacokinetic of benzocaine in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) after intraarterial dosing. *Aquaculture*, v.148, p.39-48, 1996.

Mendonça, P. P. *Influência do fotoperíodo no desenvolvimento de juvenis de tambaqui *Colossoma macropomum**. [Dissertação de Mestrado]: Universidade Estadual do Norte Fluminense, Darcy Ribeiro. 2007.

MPA. Ministério da Pesca e Aquicultura. Boletim Estatístico da Pesca e Aquicultura, Brasil, p. 18, 2010.

Okamoto, M.H.; Tesserii, M.B.; Louzada, L.R.; Santos, R.A.; Sampaio, L.A. Benzocaína e

eugenol como anestésicos para juvenis do pampo *Trachinotus marginatus*. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 39, n. 3, p. 866-870, 2009.

Okamura, D.; Araújo, F.G.; Logato, P.V.R.; Murgas, L.D.S.; Freitas, R.T.F.; Araújo, R.V. Efeito da vitamina C sobre o hematócrito e glicemia de alevinos de tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*) em transporte simulado. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.59, n.4, p.883-888, 2007

Pereira-da-Silva, E.M.; Oliveira, R.H.; Ribeiro, M.A.R.; Coppola, M.P. Efeito anestésico do óleo de cravo em alevinos de lambari. *Ciência Rural*, Santa Maria, v.39, n.6, p. 1851 - 1856, set, 2009.

Pirhonen, J., Schreck, C. B. Effects of anesthesia with MS222, clove oil and CO<sub>2</sub> on feed intake and plasma cortisol in steelhead trout (*oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, v. 220, p. 507-514, 2003

Roubach, R. e Gomes, L.C. O uso de anestésicos durante o manejo de peixes. *Panorama da Aquicultura*. V. 11 (66), p. 37-40, 2001.

Ross, L.G.; Ross, B. *Anaesthetic and sedative techniques for aquatic animals*. Oxford: Blackwell Science, 1999, 159p.

Slowing, K.V.B. Estudio de la actividad antiinflamatoria de diversas especies de la flora de Guatemala. Tese (Doutorado em Farmacologia) - Universidade Complutense de Madrid, 180p. 1992.

Terblanche, F.C., Kornelius, G. Essential oil constituents of the genus *Lippia* (Verbenaceae) — a literature review. *Journal of Essential Oil Research* 8, 471–485. 1996.

Woody, C. M.; Wilson, R. W.; Gonzalez, R. J.; Patrick, M. L.; Bergman, H. L.; Narahara, A.; Val, A. L. Responses of an Amazonian teleost, the tambaqui (*Colossoma macropomum*), to low pH in extremely soft water. *Physiological Zoology*, Chicago, v. 71, n. 6, p. 658-670, 1998.

Woody, C.A.; Nelson, J.; Ramstad, K. Clove oil as an anaesthetis for adult sockeye salmon: Field trails. *Journal of Fish Biology*, v. 60, p. 340-347, 2002.

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

VAL, A.L.; A. HONCZARYCK. *Criando peixes na Amazônia*. Manaus: INPA. 160 pp. 1995.

VAL, A. L.; ROLIM, P. R.; RABELO, H. Situação atual da aquíicultura na Região Norte. In: VALENTE, W. C.; POLI, C. R.; PEREIRA, J. A.; BORGHETTI, J. R. (Ed.). *Aquíicultura no Brasil: bases para um desenvolvimento sustentável*. Brasília: CNPq/MCT, p. 247-266. 2000.

Vale, T.G., Matos, F.J.A., Lima, T.C.M., Viana, G.S.B. Behavioral effects of essential oil from *Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown. *Journal of Ethnopharmacology* 167, 127–133. 1999.

Viana, G.S.B.; T.G. Vale; V.S.N. Rao & F.J.A. Matos. Analgesic and antiinflammatory effects of two chemotypes of *Lippia alba*: a comparative study. *Pharm Biol* 36 (5): 347–351. 1998.

Viana, G.S.B.; T.G. Vale; C.M.M. Silva & F.D.J. Matos. Anticonvulsant activity of essential oil and active principles from chemotypes of *Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown. *Biol Pharm Bull* 23 (11): 1314–1317. 2000.

Viccini, L. F.; M.M. Praça; D.C.S. Costa; E.C. Romanel; S.M. Sousa; P.H.P. Peixoto & F.R.G. Salimena. Chromosome numbers in the genus *Lippia* (Verbenaceae). *Plant Systematics and Evolution* 256 (4): 171–178. 2006.

Vidal, L.V.O.; Furuyal, W.M.; Graciano, T.S.; Schamber, C.R.; Santos, L.D.; Martinc, C. Concentrações de Eugenol para anestesia profunda e toxicidade aguda em juvenis de piavuçu (*Leporinus macrocephalus*). *Acta Sci. Biol. Sci. Maringá*, v. 29, n. 4, p. 357-362, 2007.

Vidal, L.O.V.; Albinati, R.C.B.; Albinati, A.C.L.; Lira, A.D.; Almeida, T.R.; Santos, G.B. Eugenol como anestésico para a tilápia-do-nilo. *Pesq. agropec. bras.*, Brasília, v.43, n.8, p.1069-1074, ago. 2008.

Zetola, M.; T.M.C. Lima; D. Sonaglio; G.O. Gonzales; R.P Limberger; P.R. Petrovick & V.L Bassani. CNS activities of liquid and spray-dried extracts from *Lippia alba* - Verbenaceae (brazilian false melissa). *J Ethnopharmacol* 82 (3): 207–215. 2002.

## 5. ANEXO I - COMPOSIÇÃO QUÍMICA DA *Lipia alba* utilizada no experimento

Tabela 2- Composição química do quimiotipo utilizado no experimento:

Composto	LAN (%)
$\alpha$ -thujene	0.23
$\alpha$ -pinene	0.103
sabinene	0.469
$\beta$ -pinene	0.415
1-octen-3-ol	0.046
6-methyl-5-hepten-2-one	0.557
$\beta$ -myrcene	0.388
3-octanol	
$\alpha$ -phellandrene	0.085
$\delta$ -3-carene	
$\alpha$ -terpinene	0.172
p-cymene	0.952
limonene	6.148
o-cymene	
1,8-cineole	
Z- $\beta$ -ocimene	
E- $\beta$ -ocimene	0.354
$\gamma$ -terpinene	3.164
z-sabinene hydrate	0.066
E-linalool oxide (furanoid)	
p-mentha-2,4(8)- diene	
Z-linalool oxide (furanoid)	
NI	0.087

E-sabinene hydrate	
$\beta$ -linalool	0.73
NI	
hotrienol	
1,3,8-p-menthatriene	
NI	
geijerene	0.138
NI	
NI	0.307
ipsdienol	
E-chrysanthemal	0.115
NI	
NI	
citronellal	0.215
NI	
NI	0.148
pinocarvone	
isoborneol	
NI	1.118
p-mentha-1,5-dien-8-ol	
l-terpinen-4-ol	0.203
NI	0.113
NI	1.454
p-cymen-8-ol	
$\alpha$ -terpineol	
myrtenol	0.072
Z-dihydro carvone	
E-dihydro carvone	
2,6-dimethyl-3,5,7-octatrien-2-ol, Z,Z	
2,6-dimethyl-3,5,7-octatrien-2-ol, E,E	
Z-geraniol	3.566

Z-p-mentha-1(7),8-dien-2-ol	0.155
thymol methyl ether	
	24.412
Z-citral	
carvacrol methyl ether	
carvone	
E-geraniol	5.322
E-citral	29.844
NI	
thymol	
NI	
E-pinocarvyl acetate	0.199
carvacrol	
$\delta$ -elemene	0.237
exo-2-hydroxycineole acetate	
thymol acetate	
neryl acetate	0.058
carvacrol acetate	
NI	
$\alpha$ -copaene	0.088
NI	
geranyl acetate	0.257
$\beta$ -cubebene	0.126
$\beta$ -elemene	0.301
phenyl ethyl isobutanoate	
$\alpha$ -zingiberene	0.063
$\alpha$ -cedrene	0.066
E-caryophyllene	0.992

2,5-dimethoxy-p-cymene	
$\beta$ -copaene	0.085
$\gamma$ -elemene	0.077
E- $\alpha$ -bergamotene	
$\alpha$ -caryophyllene	0.205
neryl propanoate	0.073
E- $\beta$ -farnesene	
allo-aromadendrene	0.193
$\gamma$ -muurolene	2.455
E-cadina-1(6),4-diene	
germacrene D	
NI	
phenyl ethyl 2-methyl butanoate	
NI	
epi-cubebol	
bicyclogermacrene	3.72
$\alpha$ -muurolene	0.117
Z- $\alpha$ -bisabolene	
NI	
germacrene A	0.148
$\beta$ -bisabolene	
cubebol	
$\gamma$ -cadinene	0.409
NI	
$\delta$ -cadinene	0.247
Z-sesquisabinene hydrate	
NI	
elemol	3.151
germacrene B	0.228
NI	
E-nerolidol	0.353

NI	
germacrene D-4-ol	0.258
spathulenol	0.333
caryophyllene oxide	0.803
guaiol	0.615
NI	0.237
humulene-1,2-epoxide	
$\gamma$ -eudesmol	0.234
NI	
cubenol	
NI	
$\beta$ -eudesmol	0.275
NI	0.393
$\alpha$ -cadinol	
$\tau$ -muurolol	
NI	
bulnesol	0.227
14-hydroxy-9-epi-(E)-caryophyllene	
NI	0.152
epi- $\alpha$ -bisabolol	
NI	
NI	0.109
E- $\gamma$ -atlantone	0.866
NI	0.134
Z-lanceol	0.09
NI	
NI	0.276

---

**95.470**

---



## 6. ANEXO II - ACEITE DO CEP DA UNIVERSIDADE DO ESTADO DO PARÁ



GOVERNO DO ESTADO DO PARÁ  
UNIVERSIDADE DO ESTADO DO PARÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE-  
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA  
CAMPUS XII - SANTARÉM

PROJETO DE PESQUISA ENVOLVENDO SERES HUMANOS

Sr(a). Pesquisador(a).

O projeto “**Produtos naturais como anestésicos em peixes da região oeste do Pará: Caracterização de parâmetros fisiológicos, bioquímicos e sensoriais** ” Nº 042-2012, sob a responsabilidade do (a) Pesquisador(a) Orientador(a) Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> Lenise Vargas Flores da Silva , foi **APROVADO** pelo CEP em reunião de 27/06/2012.

Santarém, 27 de junho de 2012.

Prof<sup>o</sup> Msc. André dos Santos Cabral  
Coord. CEP/UEPA-STM  
Portaria 36/07-CCBS

Prof. Msc. André dos Santos Cabral  
Coordenador do Comitê de Ética/UEPA/Campus XII/STM

## 7. ANEXO III: INSTRUÇÕES DOS PERIÓDICOS PARA SUBMISSÃO DOS ARTIGOS

### Diretrizes para Autores

#### POLÍTICA CONTRA PLÁGIO E MÁIS-CONDUTAS EM PESQUISA

Continuando nossa tradição de excelência, informamos as melhorias editoriais que visam fortalecer a integridade dos artigos publicados por esta revista. Em conformidade com as diretrizes do [COPE](#) (*Committee on Publication Ethics*), que visam incentivar a identificação de plágio, más práticas, fraudes, possíveis violações de ética e abertura de processos, indicamos:

1. Os autores devem visitar o website do COPE <http://publicationethics.org>, que contém informações para autores e editores sobre a ética em pesquisa;
2. Antes da submissão, os autores devem seguir os seguintes critérios:
  - artigos que contenham aquisição de dados ou análise e interpretação de dados de outras publicações devem referenciá-las de maneira explícita;
  - na redação de artigos que contenham uma revisão crítica do conteúdo intelectual de outros autores, estes deverão ser devidamente citados;
  - todos os autores devem atender os critérios de autoria inédita do artigo e nenhum dos pesquisadores envolvidos na pesquisa poderá ser omitido da lista de autores;
  - a aprovação final do artigo será feita pelos editores e conselho editorial.
3. Para responder aos critérios, serão realizados os seguintes procedimentos:
  - a) Os editores avaliarão os manuscritos com o sistema [CrossCheck](#) logo após a submissão. Primeiramente será avaliado o conteúdo textual dos artigos científicos, procurando identificar plágio, submissões duplicadas, manuscritos já publicados e possíveis fraudes em pesquisa;
  - b) Com os resultados, cabe aos editores e conselho editorial decidir se o manuscrito será enviado para revisão por pares que também realizarão avaliações;
  - c) Após o aceite e antes da publicação, os artigos poderão ser avaliados novamente.

#### INSTRUÇÕES PARA SUBMISSÃO DE ARTIGOS:

1. *Acta Scientiarum. Animal Sciences* ISSN 1806-2636 (impresso) e ISSN 1807-8672 (on-line), é publicada trimestralmente pela Universidade Estadual de Maringá.
2. A revista publica artigos originais em todas as áreas relevantes da Zootecnia (Produção Animal), incluindo genética e melhoramento, nutrição e digestão, fisiologia e endocrinologia, reprodução e lactação, crescimento, etologia e bem estar, meio ambiente e instalações,

avaliação de alimentos e produção animal.

3. Os autores se obrigam a declarar a cessão de direitos autorais e que seu manuscrito é um trabalho original, e que não está sendo submetido, em parte ou no seu todo, à análise para publicação em outro meio de divulgação científica. Esta declaração encontra-se disponível abaixo.

4. Os dados, idéias, opiniões e conceitos emitidos nos artigos, bem como a exatidão das referências, são de inteira responsabilidade do(s) autor(es). A eventual citação de produtos e marcas comerciais não significa recomendação de seu uso por parte do comitê editorial da revista.

5. Os relatos deverão basear-se nas técnicas mais avançadas e apropriadas à pesquisa. Quando apropriado, deverá ser atestado que a pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética e Biossegurança da instituição.

6. Os artigos submetidos poderão ser em português ou inglês. Se aceitos para publicação será obrigatória a tradução para o inglês.

7. Os artigos serão avaliados por no mínimo três consultores da área de conhecimento da pesquisa, de instituições de ensino e/ou pesquisa nacionais e estrangeiras, de comprovada produção científica. Após as devidas correções e possíveis sugestões, o artigo será aceito se tiver dois pareceres favoráveis e rejeitado quando dois pareceres forem desfavoráveis.

8. Os artigos deverão ser submetidos pela internet acessando este Portal ACTA.

9. O conflito de interesses pode ser de natureza pessoal, comercial, política, acadêmica ou financeira. Conflitos de interesses podem ocorrer quando autores, revisores ou editores possuem interesses que podem influenciar na elaboração ou avaliação de manuscritos. Ao submeter o manuscrito, os autores são responsáveis por reconhecer e revelar conflitos financeiros ou de outra natureza que possam ter influenciado o trabalho. Os autores devem identificar no manuscrito todo o apoio financeiro obtido para a execução do trabalho e outras conexões pessoais referentes à realização do mesmo. O revisor deve informar aos editores quaisquer conflitos de interesse que poderiam influenciar sobre a análise do manuscrito, e deve declarar-se não qualificado para revisá-lo.

10. A revisão de português e a tradução e/ou revisão de língua estrangeira serão de responsabilidade e custeados pelos autores dos artigos aceitos a partir de 2010, mediante comprovação emitida pelos [revisores credenciados](#).

11. Estão listadas abaixo a formatação e outras convenções que deverão ser seguidas:

a) No processo de submissão deverão ser inseridos os nomes completos dos autores (no máximo seis), seus endereços institucionais e o e-mail do autor indicado para correspondência

b) Os artigos deverão ser subdivididos com os seguintes subtítulos: Resumo, Palavras-chave, Abstract, Key words, Introdução, Material e métodos, Resultados e discussão, Conclusão, Agradecimentos (Opcional) e Referências. Esses itens deverão ser em caixa alta e em negrito e não deverão ser numerados.

c) O título, com no máximo vinte palavras, em português e inglês, deverá ser preciso. Também

deverá ser fornecido um título resumido com, no máximo, seis palavras, que não estejam citadas no título.

d) O resumo não excedendo 200 palavras, deverá conter informações sucintas sobre o objetivo da pesquisa, os materiais e métodos empregados, os resultados e a conclusão. Até seis palavras-chave deverão ser acrescentadas ao final, tanto do resumo como do abstract, que não estejam citadas no título.

e) Os artigos não deverão exceder 15 páginas digitadas, incluindo figuras, tabelas e referências. Deverão ser escritos em espaço 1,5 linhas e ter suas páginas e linhas numeradas. O trabalho deverá ser editado no MS-Word, ou compatível, utilizando Times New Roman fonte 12.

f) O trabalho deverá ser formatado em A4 e as margens inferior, superior, direita e esquerda deverão ser de 2,5 cm.

g) O arquivo contendo o trabalho que deverá ser anexado (transferido), durante a submissão, não poderá ultrapassar o tamanho de 2MB, bem como, não poderá conter qualquer tipo de identificação de autoria, inclusive na opção propriedades do Word.

h) Tabelas, Figuras e Gráficos deverão ser inseridos no texto, logo depois de citados. As Figuras e as Tabelas deverão ter preferencialmente 7,65 cm de largura, e não deverão ultrapassar 16 cm.

i) As Figuras digitalizadas deverão ter 300 dpi de resolução e preferencialmente gravados no formato jpg. Ilustrações em cores não serão aceitas para publicação.

j) Deverá ser adotado o Sistema Internacional (SI) de medidas.

k) As equações deverão ser editadas utilizando software compatível com o editor de texto.

l) As variáveis deverão ser identificadas após a equação.

m) Artigos de Revisão poderão ser publicados mediante convite do Conselho Editorial ou Editor-Chefe da Eduem.

n) A revista recomenda que oitenta por cento (80%) das referências sejam de artigos listados na base *ISI Web of Knowledge*, *Scopus* ou *SciELO* com menos de 10 anos. Recomenda-se dar preferência as citações de artigos internacionais. Não serão aceitos nas referências citações de dissertações, teses, monografias, anais, resumos, resumos expandidos, jornais, magazines, boletins técnicos e documentos eletrônicos.

o) As citações deverão seguir os exemplos seguintes que se baseiam na ABNT (NBR 6023, 10520). Citação no texto, usar o sobrenome e ano: Lopes (2005) ou (LOPES, 2005); para dois autores Kevan e Imperatriz-Fonseca (2006) ou (KEVAN; IMPERATRIZ-FONSECA, 2006); três ou mais autores, utilizar o primeiro e após et al. (MENDOZA et al., 2009). Deverão ser organizadas em ordem alfabética, justificado. Listar todos os autores do trabalho. Os títulos dos periódicos deverão ser completos e não abreviados, sem o local de publicação.

## MODELOS DE REFERÊNCIAS

## Artigos

MENDOZA, F.; VALOUS, N. A.; ALLEN, P.; KENNY, T. A.; WARD, P.; SUN, D.W. Analysis and classification of commercial ham slice images using directional fractal dimension features. *Meat Science*, v. 81, n. 2, p. 313-320, 2009.

CARDOSO, V.; QUEIROZ, A. S.; FRIES, L. A. Estimativa de efeitos genotípicos sobre os desempenhos pré e pós-desmama de populações Hereford x Nelore. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 37, n. 10, p. 1763-1773, 2008.

ÁVILA, C. L. S.; PINTO, J. C.; SUGAWARA, M. S.; SILVA, M. S.; SCHWAN, R. F. L. Qualidade da silagem de cana-de-açúcar inoculada com uma cepa de *Lactobacillus buchneri*. *Acta Scientiarum. Animal Sciences*, v. 30, n. 3, p. 255-261, 2008.

## Livros

HUI, Y. H.; NIP, W. K.; ROGERS, R.W.; YOUNG, O. A. *Meat science and applications*. Boca Raton: CRC Press, 2001.

KEVAN, P. G.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. *Pollinating bees: the conservation link between agriculture and nature*. 2<sup>nd</sup> ed. Brasília, DF: Secretariat for Biodiversity and Forests, 2006.

SOUZA, J. P. de; PEREIRA, L. B. Fatores influenciadores na competitividade da cadeia de carne bovina no Estado do Paraná. In: PRADO, I. N. do; SOUZA, J. P. de (Org.). *Cadeias produtivas: estudos sobre competitividade e coordenação*. Maringá: Eduem, 2007. p. 53-79.

## Condições para submissão

Como parte do processo de submissão, os autores são obrigados a verificar a conformidade da submissão em relação a todos os itens listados a seguir. As submissões que não estiverem de acordo com as normas serão devolvidas aos autores.

1. A contribuição é original e inédita e não está sendo avaliada por outra revista.
2. Os arquivos para submissão estão em formato Microsoft Word, Open Office ou RTF (desde que não ultrapasse 2MB).
3. Todos os endereços de páginas da Internet, incluídas no texto (Ex: <http://www.eduem.uem.br>) estão ativos e prontos para clicar.
4. O texto está em empaço 1,5; usa uma fonte de 12-pontos Times New Roman; emprega itálico ao invés de sublinhar (exceto em endereços URL); com figuras e tabelas inseridas no texto, e não em seu final. No máximo 15 páginas.
5. O texto segue os padrões de estilo e requisitos bibliográficos em [Diretrizes para Autores](#), na seção Sobre a Revista.

6. A identificação de autoria deste trabalho foi removida do arquivo e da opção propriedades do Word, garantindo desta forma o critério de sigilo da revista, caso submetido para avaliação por pares (ex.: artigos), conforme instruções disponíveis em [Assegurando a Avaliação por Pares Cega](#).
7. O artigo submetido poderá ser em português ou inglês. Se aceito para publicação será obrigatória a tradução para o inglês

#### Declaração de Direito Autoral

DECLARAÇÃO DE ORIGINALIDADE E CESSÃO DE DIREITOS AUTORAIS Declaro que o presente artigo é original, não tendo sido submetido à publicação em qualquer outro periódico nacional ou internacional, quer seja em parte ou em sua totalidade. Declaro, ainda, que uma vez publicado na revista Acta Scientiarum. Animal Sciences, editada pela Universidade Estadual de Maringá, o mesmo jamais será submetido por mim ou por qualquer um dos demais co-autores a qualquer outro meio de divulgação científica. Através deste instrumento, em meu nome e em nome dos demais co-autores, porventura existentes, cedo os direitos autorais do referido artigo à Universidade Estadual de Maringá e declaro estar ciente de que a não observância deste compromisso submeterá o infrator a sanções e penas previstas na Lei de Proteção de Direitos Autorais (Nº9609, de 19/02/98).

#### Política de Privacidade

Os nomes e endereços informados nesta revista serão usados exclusivamente para os serviços prestados por esta publicação, não sendo disponibilizados para outras finalidades ou à terceiros.

ISSN 1806-2636 (impresso) e ISSN 1807-8672 (on-line) e-mail: [actaanim@uem.br](mailto:actaanim@uem.br)

