

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CURSO DE ZOOTECNIA**

RAFAELA MARTINS FERREIRA

**MORFOLOGIA ESPERMÁTICA DE *Astyanax lacustris* APÓS INDUÇÃO
ANESTÉSICA COM ÓLEOS ESSENCIAIS**

**CAMPO GRANDE – MATO GROSSO DO SUL
2025**

RAFAELA MARTINS FERREIRA

**MORFOLOGIA ESPERMÁTICA DE *Astyanax Lacustris* APÓS INDUÇÃO
ANESTÉSICA COM ÓLEOS ESSENCIAIS**

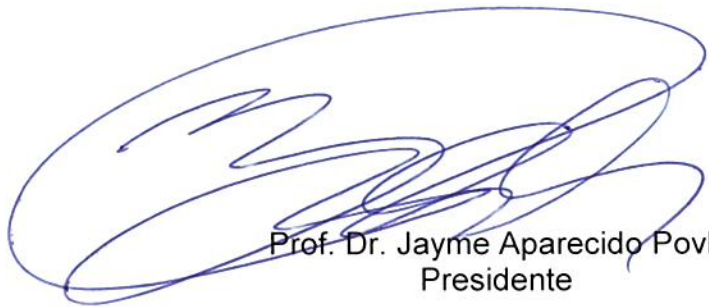
Trabalho de conclusão de curso
apresentado à Universidade Federal de
Mato Grosso do Sul, como parte das
exigências para obtenção do título de
bacharel em Zootecnia.

Orientador: Jayme Aparecido Povh

**CAMPO GRANDE - MATO GROSSO DO SUL
2025**

RAFAELA MARTINS FERREIRA

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado em 07 de novembro
de 2025, e aprovado pela Banca Examinadora:

A large, stylized handwritten signature in blue ink, consisting of several overlapping loops and curves.

Prof. Dr. Jayme Aparecido Povh
Presidente

A handwritten signature in blue ink, written in a cursive style, reading 'Rebeca Maria Sousa'.

Dra. Rebeca Maria Sousa

Membro da Banca

A handwritten signature in blue ink, written in a cursive style, reading 'Yago de Moura Martins'.

MSc. Yago de Moura Martins
Membro da Banca

Dedico este trabalho à minha família, que fez desta conquista a deles também.

In memoriam, à minha avó Antônia, que partiu deixando saudade, amor e o exemplo que me guia até hoje.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por ter colocado o curso de zootecnia em minha vida, e ter me dado forças para continuar e nunca desistir.

A minha avó Antônia que partiu antes de acompanhar minha caminhada, mas a quem tive a alegria de contar sobre minha aprovação, levo comigo sua memória, seu amor e a certeza de que se orgulha desta conquista.

Meus avós Venilde e Ademilson que sempre acreditaram que eu seria capaz, sempre tendo muito orgulho de mim, meu vô funcionário da UFMS a mais de 50 anos sempre presente nessa minha caminhada.

Aos meus pais Rosemary e Edernei, e minha irmã Ellen que me deram todo suporte necessário para eu nunca ter desistido, e ter entrado de cabeça nesse novo mundo comigo.

Meu namorado Murilo que dividiu comigo esse sonho, sendo meu porto seguro, sempre me ouvindo e auxiliando, e será meu futuro colega de profissão.

A família Lobo Melo que nunca pouparam esforços para me apoiar, sempre me orientando.

Aos meus professores Jayme Povh e Charles Kiefer que me despertaram um gosto pela nutrição animal e a piscicultura.

As minhas grandes amigas Chryslary, Lavinia e Leticia que fizeram a graduação um lugar de muito amor e companheirismo, sempre sendo apoio uma das outras, levarei para sempre no meu coração e em minha vida!

Agradeço também o grupo de pesquisa AQUIMS, em especial a técnica Karina por todo carinho e parceria, aos pós-graduandos Lucas, Rebeca, Franciele, Yago e Louise por todo aprendizado e paciência.

E a todos colegas que passaram pela minha vida durante esses 5 anos, a minha prima Ana Beatriz e amiga Leticia que fizeram de tudo para eu não desistir do vestibular no ano que entrei, aos meus tios, tias, primos e primas que sempre vibraram por mim.

A minha prima Maria Eduarda, que espero que viva esse sonho como eu e tenha muito sucesso onde seu coração mandar.

Enfim sou muito grata a todos que fizeram parte desse sonho e me apoiaram e cada momento, alguns não tão presente, mas sempre em meu coração.

“É necessário viver o processo, para poder alcançar o propósito.” -Ana Paula Cordeiro

RESUMO

O manejo reprodutivo de peixes envolve seleção, transporte, contenção e indução hormonal, sendo estressante e capaz de afetar a qualidade dos gametas. Óleos essenciais têm sido estudados como anestésicos para reduzir esse estresse. No entanto, poucos estudos têm avaliado o efeito desses óleos nas características reprodutivas de peixes Neotropicais Sul-Americanos. O lambari-do-rabo-amarelo (*Astyanax lacustris*) foi usado como modelo para desenvolver protocolos de manejo reprodutivo em espécies neotropicais Sul-Americanas. Objetivou-se com esse estudo avaliar a morfologia dos espermatozoides do lambari-do-rabo-amarelo após a indução anestésica com óleo essencial. O experimento foi conduzido com 108 peixes (14,38 g), distribuídos em três tratamentos: (i) controle; (ii) óleo essencial de manjerição e (iii) eugenol. Os peixes foram distribuídos em aquários de 20 L. Em cada repetição (aquário) foram alocados seis peixes (réplicas). Após 220 horas-grau da indução hormonal com extrato de hipófise de carpa ($2,5\text{mg kg}^{-1}$), os peixes foram anestesiados conforme tratamento estabelecido para coleta de sêmen. Para análise da morfologia espermática, foram colocados em um micro tudo de 1,5 mL um total de 10 μL de sêmen, 5% BTS®, 1.000 μL de formol salino tamponado (4,6%) e 10 μL de corante rosa de bengala. Duas alíquotas de 10 μL foram distribuídas em lâminas inclinadas a 45° e analisadas em microscópio de luz 40x, contabilizando 200 células por lâmina. A contagem de espermatozoides normais não diferiu significativamente quando os peixes foram submetidos a anestesia com óleo essencial de manjerição ($119,75 \pm 24,85$) e eugenol ($122,33 \pm 28,73$) em relação ao grupo controle ($147,20 \pm 17,47$). As principais anormalidades dos espermatozoides observadas nos peixes anestesiados e não anestesiados foram cauda quebrada, cauda enrolada, cauda curta e cabeça solta. Conclui-se que os anestésicos utilizados não influenciaram a morfologia espermática do lambari-do-rabo-amarelo.

Palavras-chave: *Astyanax lacustris*, espermatozoides, óleos essenciais, manejo reprodutivo, morfologia espermática.

ABSTRACT

The reproductive management of fish involves selection, transport, handling, and hormonal induction, which are stressful procedures capable of affecting gamete quality. Essential oils have been studied as anesthetics to reduce this stress. However, few studies have evaluated the effects of these oils on the reproductive characteristics of Neotropical South American fish. The yellow-tail lambari (*Astyanax lacustris*) was used as a model to develop reproductive management protocols for Neotropical South American species. This study aimed to evaluate the sperm morphology of *A. lacustris* after anesthetic induction with essential oil. The experiment was conducted with 108 fish (14.38 g), distributed into three treatments: (i) control; (ii) basil essential oil; and (iii) eugenol. The fish were maintained in 20 L aquariums, with six fish per tank (replicates). After 220 degree-hours of hormonal induction with carp pituitary extract (2.5 mg kg⁻¹), the fish were anesthetized according to the established treatments for semen collection. For sperm morphology analysis, 10 µL of semen were placed in a 1.5 mL microtube containing 5% BTS®, 1,000 µL of buffered saline formalin (4.6%), and 10 µL of Bengal rose stain. Two 10 µL aliquots were placed on slides inclined at 45° and analyzed under a light microscope (40× magnification), counting 200 cells per slide. The number of normal spermatozoa did not differ significantly when fish were anesthetized with basil essential oil (119.75±24.85) and eugenol (122.33±28.73) compared to the control group (147.20±17.47). The main sperm abnormalities observed in anesthetized and non-anesthetized fish were broken tail, coiled tail, short tail, and detached head. It is concluded that the anesthetics used did not influence the sperm morphology of yellow-tail lambari (*Astyanax lacustris*).

.Keywords: *Astyanax lacustris*, spermatozoa, essential oils, reproductive management, sperm morphology.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Esquema do delineamento experimental, com os tratamentos.....	13
Figura 2. Percentual de morfologia espermática de normalidade e anomalias (dano de cauda, cabeça e gota) observadas em espermatozoides de reprodutores de lambari do rabo amarelo (<i>Astyanax lacustris</i>).....	17

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Estatística descritivas dos dados da morfologia espermática de lambari do rabo amarelo (<i>Astyanax lacustris</i>).....	16
--	----

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	11
2. METODOLOGIA.....	12
2.1. Local E Animais.....	12
2.2. Delineamento Experimental.....	13
2.3. Indução Hormonal E Coleta De Sêmen.....	14
2.4. Análises De Taxa De Normalidades Dos Espermatozoides.....	14
2.5. Análise Estatística.....	15
3. RESULTADOS DISCUSSÕES.....	15
4. CONCLUSÃO	18
5. AGRADECIMENTOS.....	18
4. REFERÊNCIAS.....	18

1. INTRODUÇÃO

O manejo reprodutivo é um dos pilares fundamentais para o sucesso de uma piscicultura, e engloba etapas como seleção de reprodutores, transporte, contenção e indução hormonal. Apesar de essenciais, esses procedimentos geram estresse nos peixes, o que pode comprometer a qualidade dos gametas e reduzir o desempenho reprodutivo. Dessa forma, a adoção de estratégias para minimizar os efeitos do estresse é indispensável (BARCELLOS et al., 2000; MAZANDARANI et al., 2015).

A utilização de anestésicos é uma das principais ferramentas para reduzir os efeitos negativos diante dos desafios impostos pelo manejo reprodutivo. Eles agem conduzindo os peixes a um estado de perda parcial ou completa da percepção de estímulos. Segundo (Pereira-da-Silva et al., 2009) os anestésicos atuam reduzindo a percepção de estímulos, levando o peixe a um estado de imobilidade temporária e a perda do equilíbrio, o que contribui para um melhor manejo e redução de estresse.

O uso de produtos sintéticos como o MS-222 e a benzocaína, podem provocar efeitos adversos aos animais como a produção excessiva de muco, hiperatividade, agitação e irritação, além disso, possuem elevado valor comercial, causam danos ao meio ambiente e acumulam-se no tecido muscular dos peixes apresentando riscos para o consumo humano (AYDIN; BARBAS, 2020; YIGIT et al., 2022). Sendo assim se procura anestésicos naturais para solucionar/amenizar esses efeitos, estudos com o uso de produtos naturais, como óleos essenciais, tem sido cada vez mais relevante e demonstrado eficiência na indução a anestesia de peixes durante o manejo produtivo.

Entre os anestésicos naturais, destacam-se o óleo de cravo, cujo princípio ativo é o eugenol, e o óleo essencial de manjerição. O eugenol é amplamente descrito na literatura pela sua eficácia, rápida ação, baixo risco de toxicidade e rápida eliminação do organismo (INOUE et al., 2003; WOODY et al., 2002). O eugenol representa uma ótima alternativa diante do uso de anestésicos sintéticos, pois apresenta elevadas taxas de recuperação e baixa mortalidade, além disso, possui baixo custo e não deixa resíduos tóxicos nos tecidos dos peixes (BODUR et al., 2018).

O óleo essencial de manjerição tem se mostrado promissor como alternativa aos anestésicos sintéticos, promovendo sedação eficiente e com baixo risco de resíduos ambientais (FAÇANHA; GOMES, 2005). Na aquicultura, o óleo essencial de

manjeriço é utilizado devido suas propriedades antimicrobianas, antioxidantes, sedativa e anestésica (SOUZA et al., 2019). Assim, o óleo essencial de manjeriço é considerado um potencial anestésico para ser utilizado na piscicultura devido a suas propriedades anestésicas e sedativas, contudo, este óleo ainda não possui regulamentação para ser usado, pois é preciso conhecer as possíveis alterações fisiológicas que este provoca (VENTURA et al., 2020).

A qualidade do sêmen é determinante para o sucesso da fertilização, e a análise da morfologia espermática é uma ferramenta essencial para avaliar a integridade das células reprodutivas. Essa análise permite identificar alterações na morfologia da cabeça, peça intermediária ou flagelo, que podem comprometer a motilidade e a capacidade fecundante dos gametas (ALAVI et al., 2008; BUTTS et al., 2010). Alterações morfológicas podem reduzir a eficiência reprodutiva e impactar a produção, tornando essa avaliação um parâmetro importante na seleção de reprodutores. Estudos indicam que o uso de anestésicos pode interferir em processos fisiológicos reprodutivos, alterando parâmetros espermáticos como motilidade, viabilidade e integridade morfológica, o que reforça a importância de investigar seus efeitos sobre a qualidade seminal em peixes (CARTER; WOODLEY; BROWN, 2011).

O lambari-do-rabo-amarelo (*Astyanax lacustris*) é uma espécie de importância econômica e científica no Brasil, utilizada tanto para consumo humano, para isca-viva e alimentação de outros peixes quanto como modelo em pesquisas reprodutivas (IBGE, 2023; VALLADÃO et al., 2018). Esta espécie tem desenvolvimento precoce, atingindo a maturidade sexual por volta dos quatro meses de idade (Porto-Foresti et al., 2001). E, portanto, representa uma espécie modelo para estudos que visam desenvolver protocolos capazes de reduzir o estresse e preservar a qualidade dos gametas, apesar da importância dos anestésicos naturais, são escassos os estudos que relacionam seu uso à integridade morfológica dos espermatozoides em espécies neotropicais de pequeno porte, como o *Astyanax lacustris*. O presente trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos do eugenol e do óleo essencial de manjeriço sobre a morfologia espermática de *Astyanax lacustris*.

2. METODOLOGIA

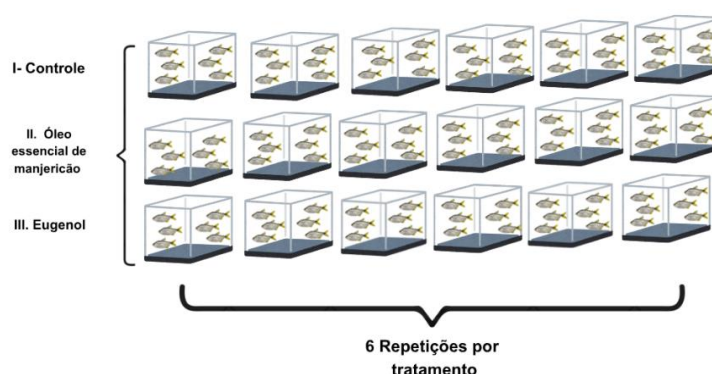
2.1. Local e animais

O experimento foi conduzido na Estação Experimental de Piscicultura da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – FAMEZ, da Universidade Federal

de Mato Grosso do Sul (UFMS), em Campo Grande – MS (20°25'57" S e 55°17'11" W). A metodologia empregada no experimento foi aprovada pelo Comitê de Ética Animal (CEUA) da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (parecer nº 1083/2019) foram utilizados 108 machos de lambari do rabo amarelo (*Astyanax lacustris*) sexualmente maduro (com peso médio de 14,38 g). Os peixes foram mantidos em tanques de manutenção de 100 m² A alimentação consistia em ração comercial com 32% de proteína bruta, administrada duas vezes ao dia em uma proporção de 5% do peso corporal dos animais. Após a seleção, baseada no peso, comprimento padrão e total, os peixes foram transferidos para caixas de polietileno de 1000 L. A oxigenação dessas caixas foi feita com um soprador de 1,5 CV e uma mangueira porosa de 0,8 cm de diâmetro. Durante o período em que os peixes estiveram nas caixas de 1000 L, a qualidade da água foi mantida com oxigênio dissolvido de 6,39 mg L⁻¹, temperatura de 27,29°C e pH de 6,46. No encerramento do período de 90 dias, os peixes foram transferidos para aquários de 20 L e mantidos em jejum por 24 horas antes do início do experimento.

2.2. Delineamento experimental

O experimento foi conduzido em um delineamento inteiramente casualizado, contendo três tratamentos; (i) controle, sem a adição de óleo essencial; (ii) tratamento com óleo essencial de manjeriço (600 µL L⁻¹), obtido a partir de uma solução anestésica na proporção de 3:10, preparada com 3 mL do óleo essencial diluídos em 10 mL de álcool 96%, originando uma solução mãe a 30%; e (iii) tratamento com eugenol (500 µL L⁻¹), formulado em solução anestésica 1:10, utilizando 1 mL de eugenol diluído em 10 mL de álcool 96%, resultando em uma solução mãe a 10%. Cada tratamento foi conduzido com seis repetições, e as unidades experimentais consistiram em aquários de 20 L, preenchidos com água decolorada e oxigenados por meio de pedras porosas, cada aquário continha seis peixes. Os peixes foram anestesiados simultaneamente para a coleta de *pools* de sêmen, sendo que cada *pool* foi formado pelo sêmen de três peixes (Figura 1).



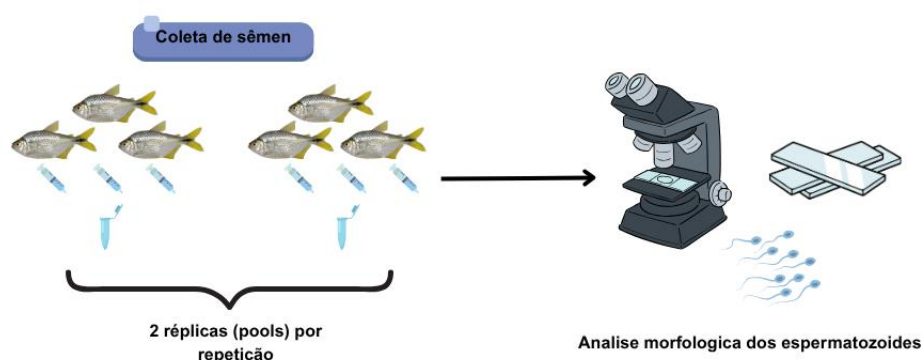


Figura 1. Esquema do delineamento experimental, com os tratamentos: Controle, Óleo Essencial de Manjeriço (OEM, $600 \mu\text{L L}^{-1}$) e Eugenol ($500 \mu\text{L L}^{-1}$). Os aquários (5 L) foram utilizados para a indução anestésica conforme cada tratamento. Após a coleta do sêmen, foram formados *pools* e realizadas as análises morfológicas das lâminas coradas.

2.3. Indução hormonal e coleta de sêmen

Para indução hormonal foi utilizada uma dose única de $2,5 \text{ mg kg}^{-1}$ de extrato de hipófise de carpa (EHC) via intraperitoneal sob a nadadeira peitoral direita (Yasui et al., 2015). Após a indução, os peixes foram transferidos para seus respectivos aquários e mantidos sob monitoramento até alcançarem as horas-grau necessárias para a reprodução do lambari-do-rabo-amarelo, que variam entre 180 e 250 UTA (unidades de temperatura acumulada), conforme descrito por Sato et al. (2003).

A coleta de sêmen foi realizada após a alocação dos peixes em aquários de 5 L, contendo as concentrações anestésicas adequadas. A coleta prosseguiu quando os animais atingiram o estágio IV de anestesia, caracterizado pela redução dos movimentos operculares, ausência de movimentos natatórios e queda da cauda (Zimba et al., 2017).

2.4. Análises de taxa de normalidades dos espermatozoides

Foram utilizados microtubos (1,5 mL) com 10 μL de sêmen + 5% BTS®, 1.000 μL de formol salino tamponado a 4,6% e 10 μL de corante rosa de bengala (Streit-Jr et al., 2004). Após a homogeneização, duas alíquotas de 10 μL foram colocadas paralelamente sobre as lâminas e em seguida as lâminas foram posicionadas em uma angulação de 45° por alguns instantes e, com a intervenção da gravidade, duas fileiras

de amostras foram formadas (Sanches et al., 2016). As lâminas foram analisadas em microscópio de luz com objetiva de 40x e foram contabilizadas 200 células na avaliação da morfologia espermática em diversos campos da lâmina, percorrida em zigue-zague.

As características e alterações morfológicas avaliadas foram classificadas segundo metodologia adaptada de Maria et al. (2010): espermatozoides sem alterações anatômicas (normais), defeitos de cauda (cauda quebrada, cauda enrolada, cauda curta, cauda solta, duas caudas, presença de gota na região proximal e presença de gota na região distal) e alterações na cabeça (macrocefalia, microcefalia e cabeça solta).

2.5. Análise Estatística

A estatística descritiva foi utilizada para descrever as variáveis de anomalias de cauda, cabeça e gota e normalidade de espermatozoides entre os grupos de anestésicos controle, óleo essencial de manjerição e eugenol. As morfologias foram comparadas entre os grupos utilizando o teste F da ANOVA e teste de Kruskal-Wallis, para os casos de verificação dos pressupostos para análise paramétrica e não paramétrica, respectivamente. Todas as análises foram desenvolvidas no SAS® Studio OnDemand (SAS Institute, 2014) ao nível de 5% de significância.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao avaliar a morfologia espermática observou-se menor coeficiente de variação para morfologia espermática normal e grande variação para dano de cauda (cauda quebrada, enrolada, curta, solta) e de cabeça (cabeça solta, microcefalia, macrocefalia) em todos os tratamentos (Tabela 1). A variável dano de gota (distal e proximal) também apresentou grande variação nos grupos controle e óleo essencial de manjerição, não sendo possível a identificação dessa variável no grupo eugenol.

Em todos os grupos avaliados, a morfologia espermática normal foi predominante em relação às anomalias. E não foram observadas diferenças ($P > 0,05$) entre os tratamentos com eugenol, óleo essencial de Manjerição e o grupo Controle (Figura 2). As principais alterações observadas foram relacionadas a danos na cauda e na cabeça, com elevada variação entre os reprodutores (Tabela 1; Figura 2). Esse padrão também foi relatado por Viveiros e Godinho (2009), que destacaram essas anomalias como as mais comuns em peixes, geralmente associadas ao estresse,

manipulação durante a coleta. Assim, é provável que a variabilidade observada esteja mais relacionada às condições de manejo e às características individuais dos reprodutores do que ao efeito direto dos anestésicos testados.

O dano de gota apresentou baixa ocorrência nos grupos Controle e Manjerição, e não foi observado em apenas uma repetição. Esse tipo de anomalia também é descrito como pouco frequente em peixes (Viveiros e Godinho, 2009), o que reforça sua baixa incidência natural, podendo estar associada ao tamanho reduzido da amostra e à baixa prevalência desse tipo de alteração.

Tabela 1- Estatística descritivas dos dados de contagem da morfologia espermática de lambari-do-rabo amarelo (*Astyanax lacustris*).

Morfologia	Controle						
	N	Mediana	Mínimo	Máximo	Média	SD	CV (%)
Normal	5	155,00	122,50	163,00	147,20	17,47	11,87
Dano de cauda	5	36,00	29,00	63,00	44,70	16,23	36,31
Dano de cabeça	5	14,00	6,00	26,00	13,50	8,12	60,18
Dano de gota	3	5,00	1,00	11,00	5,67	5,03	88,82
	Eugenol						
	N	Mediana	Mínimo	Máximo	Média	SD	CV (%)
Normal	6	126,00	88,00	169,00	122,33	28,73	23,48
Dano de cauda	6	61,00	37,00	96,00	67,58	23,20	34,32
Dano de cabeça	5	18,00	11,00	53,00	25,00	17,66	70,07
Dano de gota	1	5,00	5,00	5,00	5,00	0,00	0,00
	Manjerição						
	N	Mediana	Mínimo	Máximo	Média	SD	CV (%)
Normal	6	113,00	91,00	156,50	119,75	24,85	20,75
Dano de cauda	6	55,50	39,00	93,50	61,50	20,90	33,98
Dano de cabeça	5	11,00	5,00	64,00	21,10	24,30	115,17
Dano de gota	3	3,00	1,50	4,50	3,00	1,50	50,00

SD: desvio padrão, CV: coeficiente de variação

Observou-se que o uso dos anestésicos não afetou a morfologia dos espermatozoides, demonstrando maior porcentagem de espermatozoide normais em relação as patologias avaliadas. Quando observadas, as patologias presentes com maior porcentagem em os tratamentos estavam relacionadas para danos de cauda, danos de cabeça e danos de gota, respectivamente, sem apresentar alterações nos diferentes grupos avaliados (Figura 2).

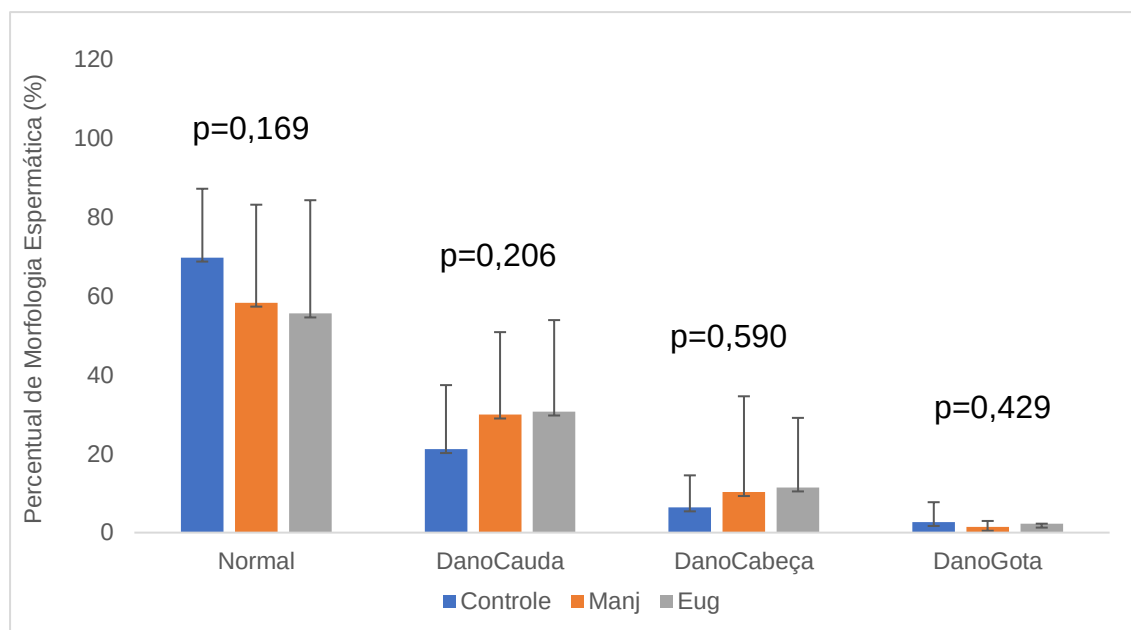


Figura 2- Percentual de morfologia espermática de normalidade e anomalias (dano de cauda, cabeça e gota) observadas em espermatozoides de reprodutores de lambari do rabo amarelo (*Astyanax lacustris*) submetidos a exposição aos anestésicos Manjeriço (OEM), Eugenol (Eug) e Controle. O *p*-valor da ANOVA é apresentado para as variáveis Normal, dano de cauda e cabeça e, de Kruskal-Wallis para Dano de Gota, cuja comparação foi realizada apenas entre os grupos OEM e Controle.

Os resultados obtidos indicam que tanto o óleo essencial de manjeriço quanto o eugenol podem ser utilizados como anestésicos sem comprometer de maneira significativa a morfologia espermática dos reprodutores. Resultados semelhantes foram descritos por Pereira et al. (2016) ao avaliarem o eugenol em tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*), sem alterações significativas na qualidade espermática.

Esses achados corroboram revisões recentes que destacam os óleos essenciais como alternativas promissoras aos anestésicos convencionais, com potencial para reduzir o estresse em peixes sem interferir na qualidade seminal (Souza et al., 2019).

Dessa forma, os resultados obtidos reforçam o potencial do óleo essencial de manjerição e do eugenol como alternativas seguras aos anestésicos convencionais, uma vez que não comprometeram a integridade morfológica dos espermatozoides. Estudos recentes têm destacado os óleos essenciais como compostos de interesse na aquicultura moderna, por apresentarem ação anestésica eficaz, baixo impacto ambiental e capacidade de minimizar o estresse durante procedimentos de manejo (SOUZA et al., 2019).

4. CONCLUSÃO

Conclui-se que a anestesia com óleo essencial de manjerição (*Ocimum basilicum*) e eugenol não influenciou de forma significativa a morfologia espermática de *Astyanax lacustris* durante o manejo reprodutivo. Assim, o uso desses anestésicos naturais pode ser considerado uma alternativa viável aos anestésicos sintéticos, visando garantir a qualidade da morfologia do sêmen coletado.

5. AGRADECIMENTOS

O presente trabalho contou com o apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ - 150010/2024-9) e da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), agradeço o apoio essencial para a realização desse trabalho.

6. REFERÊNCIAS

- ALAVI, S. M. H.; COSSON, J.; KARIMI, M.; RIAZ, T. Fish sperm motility and fertilizing ability: physiological and ecological basis. *Reproduction*, v. 135, n. 6, p. 849-868, 2008.
- AYDIN, B.; BARBAS, L. A review of clove oil as a fish anaesthetic. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, v. 20, n. 10, p. 743-751, 2020.
- BARCELLOS, L. J. G.; NICOLAIEWSKY, S.; DE SOUZA, S. M. G.; LULHIER, F. Effects of long-term crowding stress on cortisol, immune parameters and growth of

Rhamdia quelen (Quoy & Gaimard, 1824). Aquaculture Research, v. 31, n. 11, p. 983-993, 2000.

BODUR, T.; KAYA, H.; ÜSTÜNDAĞ, M. Clove oil as an anaesthetic for fish: a review of recent studies. Aquaculture Studies, v. 18, n. 3, p. 257-266, 2018.

BUTTS, I. A. E.; BAKOŠ, J.; KUBEC, J.; KOVÁČ, V.; ALAVI, S. M. H. Sperm morphology, motility and velocity in Eurasian perch (*Perca fluviatilis*). Theriogenology, v. 73, p. 120-128, 2010.

CARTER, K. M.; WOODLEY, C. M.; BROWN, R. S. A review of tricaine methanesulfonate (MS-222) for anesthesia of fish. Reviews in Fish Biology and Fisheries, Dordrecht: Springer, v. 21, n. 1, p. 51-59, 2011.

FAÇANHA, M. F.; GOMES, L. C. Efficacy of eugenol as an anaesthetic for tambaqui (*Colossoma macropomum*). Acta Amazonica, v. 35, n. 1, p. 71-75, 2005.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Produção da Pecuária Municipal 2023. Rio de Janeiro: IBGE, 2023. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br>. Acesso em: 9 out. 2025.

INOUE, L. A. K. A.; BOIJINK, C. L.; MORAES, G.; RIBEIRO, R. P. Efficacy of clove oil as anesthetic for matrinxã (*Brycon cephalus*) and its effects on cortisol levels. Aquaculture Research, v. 34, n. 11, p. 957-963, 2003.

MARIA, A. N.; CARVALHO, E. D.; OBA, E. T. Caracterização morfológica e morfométrica dos espermatozoides do *Pseudoplatystoma corruscans* (Siluriformes: Pimelodidae). Acta Scientiarum. Biological Sciences, v. 32, n. 2, p. 169-175, 2010.

MAZANDARANI, M.; RAZAVI, S. H.; MOHAMMADNEJAD, S. Effect of handling stress on cortisol and glucose concentrations and hematological parameters of *Oncorhynchus mykiss*. Iranian Journal of Fisheries Sciences, v. 14, n. 3, p. 735-743, 2015.

PEREIRA, D. M.; LUZ, R. K.; GARCIA, D. C.; LOPES, J. M. Effect of eugenol on the reproductive performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Boletim do Instituto de Pesca, v. 42, n. 2, p. 238-246, 2016.

PEREIRA-DA-SILVA, E. M.; INOUE, L. A. K. A.; MORAES, G. The use of eugenol as an anesthetic for *Prochilodus lineatus*. Aquaculture Research, v. 40, n. 6, p. 689-694, 2009.

PORTO-FORESTI, F.; CASTILHO-ALMEIDA, R. B.; FORESTI, F. Morphological and cytogenetic characterization of *Astyanax altiparanae* (Teleostei, Characidae). Genetics and Molecular Biology, v. 24, n. 1-4, p. 301-305, 2001.

SANCHES, E. A.; BOMBARDELLI, R. A.; BILHALVA, A. B. R.; SOUZA, B. E. Avaliação da morfologia e motilidade espermática de jundiá (*Rhamdia quelen*). Ciência Rural, v. 46, n. 6, p. 1055-1061, 2016.

SATO, Y.; GODINHO, H. P.; FENERICH-VERANI, N. Reprodução induzida de peixes brasileiros. In: BALDISSEROTTO, B.; GOMES, L. C. (Eds.). Espécies nativas para piscicultura no Brasil. Santa Maria: UFSM, 2003. p. 149-174.

SOUZA, J. A. R.; SILVA, D. T.; SILVA, M. P.; GOMES, L. C. Óleos essenciais como anestésicos alternativos para peixes: revisão. Boletim do Instituto de Pesca, v. 45, n. 1, p. 1-11, 2019.

STREIT-JR, D. P.; GODINHO, H. P.; MURGAS, L. D. S. Morphological and morphometric study of spermatozoa of *Prochilodus lineatus*. Brazilian Archives of Biology and Technology, v. 47, n. 4, p. 639-646, 2004.

VENTURA, A. S.; RIBEIRO, T. P.; SANTOS, E. L. Toxicidade aguda do óleo essencial de manjeriço (*Ocimum basilicum*) em peixes. Revista Brasileira de Engenharia de Pesca, v. 13, n. 2, p. 72-81, 2020.

VALLADÃO, G. M. R.; DIAS-NETO, J.; PILARSKI, F. Recent advances in the control of fish diseases in Brazil. Aquaculture Reports, v. 11, p. 100-111, 2018.

VIVEIROS, A. T. M.; GODINHO, H. P. Sperm quality and cryopreservation of Brazilian freshwater fish species: a review. *Fish Physiology and Biochemistry*, v. 35, n. 2, p. 137-150, 2009.

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

YASUI, G. S.; COSTA, D. S.; MURGAS, L. D. S.; NAKAGHI, L. S. O. Indução hormonal da reprodução de *Astyanax altiparanae* com diferentes doses de extrato de hipófise de carpa. *Boletim do Instituto de Pesca*, v. 41, n. 3, p. 559-568, 2015.

YIGIT, M.; BULUT, M.; ARSLAN, M. Stress mitigation and anesthesia in fish aquaculture: an overview of natural anesthetics. *Reviews in Aquaculture*, v. 14, n. 1, p. 387-401, 2022.

ZIMBA, L. A.; BRANDÃO, F. R.; RIBEIRO, R. P. Anestesia em peixes: fundamentos e aplicações. *Boletim Técnico do Instituto de Pesca*, v. 47, n. 2, p. 81-94, 2017.