

CHRISTIANE DE OLIVEIRA VALENTE

**USO DE TRÊS ANESTÉSICOS PELO MÉTODO DE ASPERSÃO BRANQUIAL
EM ADULTOS DE PEIXES DE PRODUÇÃO**

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Viçosa, como
parte das exigências do Programa de Pós-
Graduação em Biologia Animal, para
obtenção do título de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2009

CHRISTIANE DE OLIVEIRA VALENTE

**USO DE TRÊS ANESTÉSICOS PELO MÉTODO DE ASPERSÃO BRANQUIAL
EM ADULTOS DE PEIXES DE PRODUÇÃO**

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Viçosa, como parte
das exigências do Programa de Pós-
Graduação em Biologia Animal, para
obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 04 de dezembro de 2009.

Prof. José Teixeira de Seixas Filho

Dr. Rodrigo Diana Navarro

Profª. Sirlene Souza Rodrigues Sartori

Prof. Luiz Carlos dos Santos

Prof. Oswaldo Pinto Ribeiro Filho
(Orientador)

Aos meus pais, Arlinda de Oliveira Valente e Valdir Alves Valente, os quais amo muito, que sempre me deram muito carinho, educação e apoio nos momentos mais difíceis e por não terem medido esforços para me dar tudo que precisei.

Ao meu irmão Marcus Vinícius de Oliveira Valente (*in memoriam*), pelo exemplo de vida. Pessoa muito amada que lembrarei para sempre.

À minha irmã Larissa de Oliveira Valente pelo carinho e amor.

Ao meu namorado Rodrigo Yutaka Dichoff Kasai pelo seu amor, carinho, companheirismo e incentivo.

Dedico.

“Pensa como os sábios, mas fala como as pessoas simples” (Aristóteles), pois “somente é útil o conhecimento que nos torna melhores” (Sócrates).

AGRADECIMENTOS

Ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, Universidade Federal de Viçosa, pela oportunidade de realização e conclusão do Mestrado.

À Deus, por dar-me capacidade de realizar meu trabalho.

Ao meu Orientador Prof. Dr. Oswaldo Pinto Ribeiro Filho, pela confiança e principalmente pela atenção repassada.

Aos Coorientadores: José Cola Zanúncio e Luiz Carlos dos Santos.

Ao Prof. Paulo Roberto Cecon pela ajuda nas análises estatísticas.

Ao Dr. João Salame, por ter cedido seus peixes e sua piscicultura para realização deste trabalho. Ao Marcelo e Gabriel da piscicultura.

Ao George Shigucki Yasui, pelas idéias na realização deste trabalho.

Em especial às minhas amigas Janaína e Lidiane por estarem presentes em todos os momentos de minha vida.

Aos meus tios que torceram por mim e primos pelo carinho.

Em especial às minhas primas Ana Gláucia, Nane, Lú e Cele pelo carinho sempre.

À Angélica da Silva Oliveira pela convivência e pela ajuda neste trabalho.

Ao colega de trabalho Marcelo pela ajuda no campo.

Aos orientados do professor Oswaldo pela convivência.

Aos funcionários do Ranário da Universidade Federal de Viçosa (Raimundo, José Antônio, Everaldo e Álvaro).

Aos secretários e funcionários da Secretária do Departamento de Biologia Animal.

À todos aqueles que de alguma forma contribuíram e participaram de mais uma etapa da minha vida.

MUITO OBRIGADA.

BIOGRAFIA

CHRISTIANE DE OLIVEIRA VALENTE, filha de Valdir Alves Valente e Arlinda de Oliveira Valente, nasceu em 31 de outubro de 1978 na cidade de Coronel Fabriciano, Minas Gerais.

Em 2001, ingressou no Centro Universitário do Leste de Minas Gerais-UNILESTE-MG, onde, em dezembro de 2005, graduou-se em Ciências Biológicas.

Em agosto de 2007, iniciou o Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, em nível de Mestrado, no Departamento de Biologia Animal na Universidade Federal de Viçosa (UFV), defendendo a dissertação em dezembro de 2009.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	vii
LISTA DE FIGURAS	viii
RESUMO	ix
ABSTRACT	x
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. OBJETIVOS.....	3
2.1. Objetivo geral.....	3
2.2. Objetivos específicos.....	3
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	4
3.1. Estresse em peixes.....	4
3.2. Uso de anestésicos em peixes.....	6
3.2.1. Aplicação direta do anestésico nas brânquias do peixe.....	12
3.3. Anestésicos em estudo.....	12
3.3.1. Benzocaína.....	12
3.3.2. Óleo de cravo.....	14
3.3.3. Mentol.....	17
3.4. Espécies em estudo.....	18
3.4.1. Piavuçu <i>Leporinus macrocephalus</i> (Garavello & Britski, 1988).....	18
3.4.2. Curimatá <i>Prochilodus lineatus</i> (Valenciennes, 1836).....	19
3.4.3. Trairão <i>Hoplias lacerdae</i> (Ribeiro, 1908).....	20
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	22
4.1. Animais em Estudo.....	22
4.2. Condições Ambientais.....	22
4.3. Indução da anestesia, Tempo de sedação em bancada e Recuperação anestésica.....	24
4.4. Avaliação da permanência no estado de anestesia.....	28
4.5. Análise estatística.....	29
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	30
5.1. Piavuçu (<i>Leporinus macrocephalus</i>).....	30
5.1.1. Óleo de cravo.....	32
5.1.2. Benzocaína.....	34
5.1.3. Mentol.....	36
5.2. Curimatá (<i>Prochilodus lineatus</i>).....	36
5.2.1. Óleo de cravo.....	38
5.2.2. Benzocaína.....	40
5.2.3. Mentol.....	41
5.3. Trairão (<i>Hoplias lacerdae</i>).....	42
5.3.1. Óleo de cravo, Benzocaína e Mentol.....	42
5.4. Influência de fatores como peso e temperatura da água de recuperação.....	44

6. CONCLUSÃO.....	46
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	47

LISTA DE TABELAS

TABELA 1. Comprimento padrão médio (CPM) e peso médio (PM) das espécies em estudo: Piavuçu, curimbatá e trairão.....	22
TABELA 2. Temperatura em °C dos tanques de estocagem (TE), do tanque de recuperação (TR) e das espécies em estudo (TES): Piavuçu, curimbatá e trairão.....	23
TABELA 3. Estágios de anestesia em peixes.....	26
TABELA 4. Estágios de recuperação anestésica.....	28
TABELA 5. Resumo da Análise da variância da variável TR (tempo de recuperação) em função do anestésico (AN) e concentração (CO) em piavuçu (<i>Leporimus macrocephalus</i>)	31
TABELA 6. Valores Médios de TR (Tempo de recuperação em segundos) para os respectivos anestésicos em piavuçu (<i>Leporimus macrocephalus</i>).	31
TABELA 7. Resumo da Análise da variância da variável TR (tempo de recuperação) em função do anestésico (AN) e concentração (CO) em curimbatá (<i>Prochilodus lineatus</i>)	37
TABELA 8. Valores Médios de TR (tempo de recuperação anestésica em segundos) para os respectivos anestésicos (AN) em curimbatá (<i>Prochilodus lineatus</i>).....	37

LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1. Tanques escavados utilizados para estocagem dos animais adultos (piavuçu, curimatá e trairão) para estudos de anestésicos 23
- FIGURA 2. Exemplar adulto de curimatá (*Prochilodus lineatus*) submetido à anestesia por aspersão do anestésico na brânquia..... 25
- FIGURA 3. Realização da biometria em exemplar adulto de trairão (*Hoplias lacerdae*). (A) Pesagem; (B) Medição de comprimento padrão 27
- FIGURA 4. (A) Exemplar adulto de curimatá (*Prochilodus lineatus*) em processo de recuperação da anestesia; (B) tanguê de recuperação. 39

RESUMO

VALENTE, Christiane de Oliveira, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, dezembro de 2009. **Uso de três anestésicos pelo método de aspersão branquial em adultos de peixes de produção.** Orientador: Oswaldo Pinto Ribeiro Filho. Coorientadores: José Cola Zanúncio e Luiz Carlos dos Santos.

Foi avaliada a eficácia do óleo de cravo, mentol e benzocaína como anestésico em adultos de trairão (*Hoplias lacerdae*), piavuçu (*Leporinus macrocephalus*) e curimbatá (*Prochilodus lineatus*). Os peixes (n=3) foram individualmente expostos a concentrações de 100, 125, 150, 175 mg L⁻¹, com exceção do trairão que utilizou-se as concentrações 150, 175, 200 e 250 mg L⁻¹, devido a testes feitos com as concentrações anteriores, e as mesmas não responderam positivamente. O método utilizado para expor os animais ao anestésico foi aspersão branquial. Os parâmetros de observação estabelecidos foram: efeito calmante e respostas apenas a estímulos táteis mais intensos. Após a indução anestésica foi realizada a biometria. A recuperação foi conduzida em um aquário, contendo 300 litros de água corrente livre de anestésico. O tempo de indução e recuperação foi registrado para cada peixe. Avaliou-se o tempo de retorno à alimentação e a mortalidade após o tratamento anestésico. Foi constatada a eficácia dos três anestésicos em todas as concentrações testadas para adultos de trairão e curimbatá. Também foi verificada a eficiência do óleo de cravo e benzocaína em piavuçu. Nenhuma concentração de mentol foi capaz de induzir a anestesia em adultos de piavuçu. As concentrações utilizadas não exerceram influência estatística nos tempos de indução e recuperação anestésica em piavuçu, curimbatá e trairão. Os peixes anestesiados com óleo de cravo obtiveram tempo de retorno à anestesia maior entre os anestésicos em estudo com piavuçu e curimbatá.

ABSTRACT

VALENTE, Christiane de Oliveira, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, december of 2009. **Use of three anesthetics by the gills sprays method in adult fish production.** Adviser: Oswaldo Pinto Ribeiro Filho. Co-Advisers: José Cola Zanúncio and Luiz Carlos dos Santos.

Was evaluated the efficiency of clove oil, menthol and benzocaine as an anesthetic for trairão (*Hoplias lacerdae*), piavuçu (*Leporinus macrocephalus*) and curimbatá (*Prochilodus lineatus*). The fish (n=3) were individually exposed to concentrations of 100, 125, 150, 175 mg L⁻¹, except trairão, to this fish were used the concentrations 150, 175, 200 and 250 mg L⁻¹, because the tests with the previous concentrations, and they did not respond positively. The method used to expose the animals to the anesthetic was sprays in the gills. The parameters to evaluated the anesthesia effects were: sedative effect and sensitivity responses to touch. After anesthesia was performed biometric. The recovery was conducted in aquarium, containing 300 liters of anesthetic free running water. The time of induction and recovery was recorded for each fish. It was evaluated the time return to fed and the mortality after anesthetic induction. It was confirmed the efficient effect of the three anesthetics at all concentrations tested for trairão and curimbatá. We also observed the efficiency of clove oil and benzocaine in piavuçu. No concentration of menthol was able to induce anesthesia in piavuçu, and the concentrations used did not affect the statistical time of recovery from piavuçu, curimbatá and trairão. The anesthesia time return of fish anesthetized with clove oil was greater among anesthetics in the study with piavuçu and curimbatá.

1. INTRODUÇÃO

Nos últimos anos os mais diversos segmentos da piscicultura vêm se desenvolvendo no Brasil, isso se deve principalmente pelo clima e disponibilidade de água. Dentre estes, destacam-se a pesca esportiva, criações particulares como fontes de subsistência, cultivos intensivos para a comercialização, pesque-pagues, industrialização de pescados para consumo, ornamentação, saneamento e povoamento ou repovoamento de ambientes naturais e a manutenção do estoque para a preservação de bancos genéticos (GALDIOLI et al., 2002).

A permanência de peixes em ambientes onde fatores como as variáveis de qualidade de água não oferecem condições adequadas, ou as práticas de manejo empregadas são inadequadas, podem conduzi-los a situação de estresse que pode resultar em baixas taxas de sobrevivência e de crescimento, e redução da capacidade reprodutiva, além de contribuir para a redução da eficácia do sistema imunológico (McCORMIK et al., 1998). É muito comum o relato de prejuízos econômicos devido à mortalidade decorrente das deficiências gerais de manejo (CUNHA, 2007).

Várias são as alternativas para redução do estresse nos mais diversos sistemas de produção de peixes, dentre estas destaca-se a utilização de boas práticas de manejo, tais como, transporte adequado dos animais e manuseio correto. Outra forma de reduzir o estresse dos peixes é a utilização de anestésicos nos sistemas de produção, reduzindo a atividade dos animais durante o manejo, tais como transporte, pesagem, marcação e biometria (PIRHONEN e SCHRECK, 2002). O anestésico pode ainda ser utilizado em qualquer procedimento que resulte em perda de escamas e muco, o que pode acarretar infecções por parasitas.

É importante destacar que a sensibilidade dos peixes aos anestésicos é espécie-específica, portanto, é necessário testar várias concentrações, tempo de indução e recuperação, pois doses erroneamente administradas podem levar o animal à morte (ROUBACH e GOMES, 2001). Além de variar para cada espécie, a dose de anestésico necessária para indução e recuperação de peixes está diretamente ligada com conteúdo de gordura, tamanho do corpo, idade e sexo, bem como temperatura e pH do meio (DELBON, 2006). Deste modo, a anestesia em peixes deve ser realizada com cuidado, de forma a minimizar o estresse e conseqüentemente diminuir os riscos de mortalidade.

A anestesia em peixe é administrada normalmente de três formas: inalação, injeção (BOWSER, 2001) e aspersão branquial (ROSS e ROSS, 2008).

O conhecimento sobre anestesia de peixes poderá trazer diversos benefícios, tanto para os centros de reprodução que visam o repovoamento de espécies em razão das profundas modificações ocorridas no seu ambiente original, como também para os centros que produzem peixes em escala comercial. Um dos desafios para o produtor de peixes está na manutenção de animais saudáveis e na produção de um produto de qualidade. Além disso, o desenvolvimento de técnicas de anestesia proporcionaria melhoria no manejo reprodutivo, pois a reprodução artificial de peixe em cativeiro, principalmente as espécies de piracema, exige técnica, já que, em cativeiro, estes peixes não sofrem os estímulos ambientais necessários para a sua reprodução (ADAMANTE, 2005).

Dentre as espécies manipuladas em cativeiro para reprodução, destacam-se: o piavuçu (*Leporinus macrocephalus*), por ser uma espécie de grande interesse comercial que, quando mantida em cativeiro, não se reproduz, sendo necessário o uso de hormônios para indução; o curimatá (*Prochilodus lineatus*) por se tratar de uma espécie de perspectivas para a criação comercial, sendo importante tanto do ponto de vista zootécnico quanto de estabilidade de conservação dos ecossistemas aquáticos tropicais nos quais habita, necessitando também de indução hormonal para se reproduzir em cativeiro; e o trairão (*Hoplias lacerdae*), pela rentabilidade de sua criação. O uso de anestésico pode facilitar o manejo dessas espécies.

Portanto, é importante que se aperfeiçoe técnicas de cultivos que reflitam em sucesso produtivo das espécies de peixe.

Devido à importância do uso de anestésicos em práticas de manejo na piscicultura, o estudo da utilização deste produto tanto do ponto de vista biológico, quanto do ponto de vista econômico se torna indispensável. Informações referentes ao tempo de indução, recuperação e comportamento de animais expostos a diferentes anestésicos podem contribuir para o melhor manejo.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Avaliar a ação de três anestésicos em solução aquosa (óleo de cravo, benzocaína e mentol) em adultos de piavuçu, curimbatá e trairão por meio de aspersão direta nas brânquias.

2.2. Objetivos específicos

Testar quatro concentrações dos anestésicos: de óleo de cravo, benzocaína e mentol, quais apresentam melhores tempos de indução e recuperação anestésica.

Avaliar o estágio anestésico atingido para cada animal.

Avaliar o tempo de permanência do estado anestésico para as espécies.

Avaliar o efeito do anestésico sobre a mortalidade.

Avaliar o tempo de retorno à alimentação após o tratamento anestésico.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Estresse em peixes

Os peixes apresentam resposta a agentes estressores semelhante a dos mamíferos (WENDELAAR BONGA, 1997). Os efeitos do estresse e os métodos para minimizá-los têm recebido considerável atenção (BARTON e IWAMA, 1991; CECH JUNIOR et al., 1996), resultando em uma extensa literatura sobre a resposta ao estresse dos peixes em práticas na aquicultura (TORT et al., 1996; WARING et al., 1996; ARENDS et al., 1999; BARTON et al., 2000).

O estresse pode ser classificado de duas formas: estresse agudo e estresse crônico. O estresse agudo é causado por algum erro momentâneo nas atividades de manejo. Já o estresse crônico ocorre quando os animais são mantidos por um longo período de tempo em condições inadequadas (BARTON e IWAMA, 1991). O estresse crônico está frequentemente associado com mau desempenho e foi durante muito tempo associado com imunossupressão em peixes cultivados (THOMAS e LEWIS, 1987; MAULE et al., 1989).

A resposta ao estresse pode ser vista como a capacidade dos peixes mobilizarem as reservas de energia de forma a evitar ou vencer situações de ameaça. Os peixes respondem ao estresse de forma proporcional à gravidade e duração do agente estressor (BARTON, 1997), de acordo com a variabilidade genética (POTTINGER e CARRICK, 1999; TANCK et al., 2002) e a diferentes maneiras para manter a homeostase após o estresse (WEDEMEYER et al., 1990). A atenção e a preocupação com o significado do estresse em peixes têm aumentado consideravelmente nos últimos anos, principalmente pelos efeitos negativos na produção (URBINATI e CARNEIRO, 2005).

O manejo inadequado, devido à mortalidade, está entre os maiores agentes causadores de prejuízos econômicos expressivos (CUNHA, 2007). Algumas práticas realizadas na piscicultura, como biometria, análises patológicas, induções hormonais e transporte, frequentemente expõem os peixes a uma variedade de fatores estressantes que têm o potencial de afetar seu desempenho (BARTON, 2000; COYLE et al., 2005; VIDAL et al., 2007a). O simples contato dos animais com o ar atmosférico durante a biometria é suficiente para desencadear uma reação de estresse (McGEE e CICHRA, 2002), provocando alterações na agressividade e perseguição social (LEFRANÇOIS, 2001), diminuindo a alimentação e consequente atraso no crescimento e mortalidade

(BARTON, 1997), além da redução da capacidade reprodutiva (MAULE et al., 1989; CAMPBELL et al., 1994; McCORMIK et al., 1998; SMALL, 2004).

Outros fatores como densidades populacionais inadequadas (PICKERING, 1992), deficiência nutricional, salinidade e fatores ambientais como temperatura (BARTON e IWAMA, 1991) e fotoperíodo, também podem provocar estresse (BARTON e IWAMA, 1991; ALMAZÁN RUEDA et al., 2005).

O estresse provoca alterações na agressividade gerando maior exigência metabólica (LEFRANÇOIS, 2001), consumindo mais oxigênio e produzindo mais resíduos (SANNI e FORSBERG, 1996; WEDEMEYER, 1997). Os produtos residuais de maior preocupação são o dióxido de carbono e a amônia (WEDEMEYER, 1997). O uso do anestésico no transporte forneceria uma água de melhor qualidade, e quantidades maiores de peixes poderiam ser transportadas no mesmo recipiente. O estresse também afeta a atividade dos leucócitos, facilitando a infecção por fungos e bactérias (SCHRECK, 1996), podendo causar mortalidade (DURVILLE e COLLET, 2001).

Dentre as práticas de manejo, o transporte dos animais é considerado um dos processos mais traumáticos. Transportar peixes de um local para outro engloba muito mais do que apenas o transporte, inclui desde a captura em tanques de produção, manipulação, transporte e armazenamento até a liberação (McDONALD et al., 1993; STAURNES et al., 1994; IVERSEN et al., 1998). Esse processo deve ser planejado de modo que as injúrias proporcionadas aos animais sejam as menores possíveis. São várias as finalidades do transporte, como a comercialização de alevinos, as aquisições de peixes adultos por pesque-pagues, o transporte de reprodutores e o transporte de peixes destinados ao comércio de peixe vivo, como em feiras e mercados (GOMES et al., 2003a).

Lotes de peixes mal transportados podem alcançar 100% de mortalidade devido às condições inadequadas de transportes (MAZIK et al., 1991), sendo importante também acompanhar mortalidade pós-transporte (NOMURA, 2008).

Entretanto, mesmo sem mortalidade durante o transporte, a ocorrência de estresse agudo pode predispor os peixes a patologias pós-estocagem devido à imunossupressão causada pelo estresse (BARTON e IWAMA, 1991; WENDELAAR BONGA, 1997), afetando a qualidade da carne (VAN WEERD e KOMEN, 1998; WARRISS, 1998).

O estresse durante o transporte de peixes tem sido minimizado com restrição alimentar antes do transporte e uso de substâncias como cloreto de sódio (sal de cozinha)

e anestésicos, adicionados na água do transporte (WURTZ, 1995; ROSS e ROSS, 1999; CARNEIRO e URBINATI, 2001; GOMES et al., 2003b). Também é indicado restrição alimentar antes de procedimentos anestésicos, para que possíveis restos de alimentos no trato digestório não contribuam para o acúmulo de metabólitos na água (BROWN, 1993).

3.2. Uso de anestésicos em peixes

O uso de anestésicos no manejo de peixes foi iniciado com indígenas americanos, que colocavam rotenona (*Derris elliptica*) para sedar e capturar os peixes na natureza (SEDFEWICK, 1986). A anestesia geral em peixes foi descrita inicialmente por Mc Farland em 1960 (apud BROWN, 1988).

Substâncias anestésicas tornaram-se métodos alternativos, usados para coletar, transportar, pesar, medir, marcar peixes (MARŠIC-LUCIC et al., 2005), coletar ovos, injetar antibióticos, vacinas e extrair sangue (PARK et al., 2003, 2004). O manejo de peixes sem anestesia pode destruir ovos em um ovário em amadurecimento, remover muco e escamas (SOTO e BURHANUDDIN, 1995).

Os anestésicos são agentes químicos ou físicos com o objetivo de sedar um animal causando perda de mobilidade, equilíbrio, consciência e finalmente, das reações reflexas por evitarem o início e a condução do impulso nervoso (SUMMERFELT e SMITH, 1990), ocasionando a perda completa ou parcial dos sentidos corporais devido à diminuição das funções nervosas (IWAMA e ACKERMAN, 1994) e cárdio-respiratórias (SUMMERFELT e SMITH, 1990). Isso tem demonstrado ajudar na redução dos impactos do estresse das espécies de peixes em sistemas de aquicultura (MUNDAY e WILSON, 1997; ROSS e ROSS, 1999; ORTUÑO et al., 2002; WAGNER et al., 2002; PIRHONEN e SCHRECK, 2003). A redução do metabolismo, do estímulo visual, do consumo de oxigênio e excreção de amônia nos peixes são algumas das vantagens da utilização desses produtos químicos (WURTS, 1995). A anestesia e a sedação são consideradas instrumentos valiosos na aquicultura (ROSS e ROSS, 2008).

O conhecimento de métodos que permitam intervenções nas funções vitais e fisiológicas dos peixes é importante para evitar que ocorra mortalidade durante o transporte ou manejo (OLSEN, et al., 1995; CUNHA, 2007). Dentre os métodos utilizados para minimizar o estresse dos danos físicos e facilitar o manuseio, destaca-se

o uso de anestésicos (OLSVIK et al., 2007). Substâncias anestésicas são frequentemente utilizadas para reduzir hipermotilidade, pois animais muito agitados tendem a sofrer mais ferimentos durante procedimentos de manejo e/ou transporte, o que aumenta a suscetibilidade dos peixes a patógenos e doenças infecciosas (INOUE et al., 2003; VIDAL et al., 2006). O uso de anestésicos minimiza doenças oportunistas, e conseqüentemente há redução no uso de medicamentos.

O anestésico entra no sistema circulatório do animal através das brânquias e da pele do peixe, bloqueando os reflexos (SUMMERFELT e SMITH, 1990). Porém, é pelas brânquias que ocorre o principal caminho de entrada e de ventilação branquial (DELBON, 2006). Por isso, qualquer fator que afete esta ventilação, como a temperatura, por exemplo, pode comprometer o efeito do anestésico (HIKASA et al., 1986) e também a eliminação de seus resíduos (DELBON, 2006).

Existem vários tipos de anestésicos utilizados em peixes durante o manejo e o transporte dos animais (CARMICHAEL e TOMASSO, 1988). Vários estudos têm demonstrado o efeito positivo dos anestésicos no manejo de muitas espécies de peixes (CARMICHAEL e TOMASSO, 1988). Por outro lado, vários outros estudos apontam os efeitos negativos do anestésico, como: estresse, mortalidade ou sua ineficiência (ROBERTSON et al., 1988). O efeito dos anestésicos como redutor de estresse em peixes é controverso, uma vez que respostas ao estresse do próprio anestésico têm sido observadas em peixes expostos ao MS-222, óleo de cravo, metomidato, benzocaína, gás carbônico e fenoxietanol (TORT et al., 2002; IVERSEN et al., 2003; PIRHONEN e SCHRECK, 2003; WAGNER et al., 2003).

Nos setores de pesca e da aquicultura existem muitos casos que necessitam de alguma forma de sedação ou anestesia dos peixes, a fim de facilitar a movimentação, sem ferir os animais (SUMMERFELT e SMITH, 1990; ROSS e ROSS, 1999, 2008). Outro fator relevante é que, os movimentos bruscos dos animais colocam em risco também a segurança dos trabalhadores, principalmente quando são manuseados instrumentos pontiagudos ou cortantes, tais como, bisturis, agulhas e tesouras (BARBOSA et al., 2007). O risco de machucar o peixe ou o manipulador aumenta se o peixe for de grande porte. Em países em que existe uma legislação clara sobre bem estar animal, os anestésicos são exigidos rotineiramente durante os procedimentos que são julgados estressantes ou dolorosos para os peixes (VELÍŠEK et al., 2006).

Diferentes anestésicos têm sido utilizados na aquicultura e avaliados suas aplicações (ROSS e ROSS, 1999), a recuperação dos peixes (HILL et al., 2004) e o

efeito sobre o desempenho da natação do peixe após a anestesia (ANDERSON et al., 1997).

Algumas substâncias químicas, como a benzocaína (etil para-aminobenzoato), o MS-222 (tricafina metano sulfonato), a quinaldina (2-4-metilquinolina) e o fenoxietanol (2-fenoxietanol) podem ser utilizadas como anestésicos para peixes (SEDGWICK, 1986). Porém, com exceção da benzocaína, estes anestésicos são de difícil obtenção, apresentam alto custo e efeitos adversos, como irritabilidade nos animais e efeitos deletérios nos manuseadores (ROUBACH e GOMES, 2001). A quinaldina, por exemplo, tem sido amplamente utilizada na piscicultura, porém tem sido associada com anormalidades da tireóide em humanos e camundongos (CLARK, 1990), além do animal que está sendo sedado não perder completamente as respostas reflexas (TYTLER e HAWKINS et al., 1981).

A maioria destes anestésicos cumprem os critérios básicos para eficácia e segurança (MARKING e MEYER, 1985). Dependendo do país, alguns destes compostos não são aprovados para uso em peixes, por apresentarem riscos de segurança para o usuário (BERNSTEIN et al., 1997).

Anestésicos extraídos de plantas, como o óleo de cravo (eugenol) e o mentol, também podem ser utilizados em procedimentos anestésicos com segurança e eficácia (STEHLY e GINGERICH, 1999; WOODY et al., 2002; INOUE et al., 2003; HOSKONEN e PIRHONEN, 2004).

Outros produtos químicos como o dióxido de carbono (CO₂) (BOWSER, 2001; ROSS et al., 2007), bicarbonato de sódio (NaHCO₃) (ALTUN et al., 2009), cetamina (BRUECKER e GRAHAM, 1993), clorobutanol (GILDERHUS e MARKING, 1987), sulfato de quinaldina (MASSEE et al., 1995) e metomidato (MOLINERO e GONZALES, 1995) são usados como anestésicos. O choque elétrico também pode induzir à anestesia (CHIBA et al., 1990), assim como a hipotermia (YOKOHAMA et al., 1989).

Tradicionalmente, os produtos químicos como o uretano, éter e clorofórmio foram utilizados para anestesia em peixes, no entanto, estas substâncias são agora limitadas devido a presença de agentes cancerígenos. Estes anestésicos causam indesejáveis efeitos colaterais, têm baixa margem de segurança e sua utilização tem sido limitada ou rejeitada (HASLER e MEYER, 1942).

O anestésico Aqui-STM também vem sendo utilizado na anestesia de peixes. Este produto contém 50% de isoeugenol (2-metoxi-4-propenylphenol) e 50% de polissorbato

80 (IVERSEN et al., 2003), sendo considerado uma substância segura pela United States Food and Drug Administration – FDA (agência norte-americana que regula o uso de drogas e alimentos) (ROSS e ROSS, 1999).

A eficácia do anestésico pode ser dependente de inúmeros fatores (OLSEN et al., 1995; STEHLY e GINGERICH, 1999), como a qualidade da água na qual se realiza o procedimento de anestesia e posterior recuperação (GIMBO et al., 2008). E está condicionada pelo ambiente (temperatura, pH e salinidade) e a fatores biológicos (tamanho, peso e conteúdo lipídico) do animal (BURKA et al., 1997; ROSS e ROSS, 1999). Um exemplo do anestésico está condicionado pelo ambiente é o fato do óleo de cravo não se dissolver completamente na água abaixo de 15°C (WOODY et al., 2002). Em temperaturas mais altas a taxa metabólica do peixe é maior e conseqüentemente a indução à anestesia é mais rápida (ROUBACH e GOMES, 2001). A eficácia do anestésico também está relacionada ao tipo de anestésico, da concentração utilizada e da duração da exposição ao fármaco (ROSS e ROSS, 2008).

Sabe-se que os aspectos anatômicos e fisiológicos são espécie-específicos (YASUI et al., 2009). Além disso, a resistência e tolerância aos anestésicos variam de indivíduo para indivíduo, podendo espécies afins diferir muito quanto a utilização de determinado anestésico (KING et al., 2005). A eficácia do anestésico geralmente diminui com o tamanho do peixe (OLSEN et al., 1995), assim, em peixes menores a indução à anestesia é mais rápida e a recuperação mais lenta (ROUBACH et al., 2002). O tamanho da área branquial do peixe também influencia na tolerância ao anestésico (ROUBACH e GOMES, 2001). Indivíduos com relação área branquial/peso do corpo elevada têm absorção do fármaco mais eficiente e peixes com aparatos respiratórios acessórios tendem a apresentar indução mais lenta (GUNN, 2000).

Os anestésicos são considerados substâncias apolares e sua retenção nos tecidos corporais está diretamente relacionada aos seus níveis de gordura (WALSH e PEASE, 2002), portanto, esta droga pode acumular nos peixes adultos, necessitando maior tempo de recuperação (STOSKOPF, 1993).

A escolha do anestésico geralmente está relacionada com a viabilidade econômica, com as considerações legais (IWAMA e ACKERMAN, 1994; PIRHONEN e SCHRECK, 2002), a disponibilidade, a praticidade no uso, a impossibilidade de causar risco à saúde do consumidor (CHO e HEATH, 2000), a ação rápida sem complicações posteriores para o peixe (SYLVESTER, 1975), a capacidade de redução de estresse do peixe (OLSEN et al., 1995; KEENE et al., 1998), não deixar resíduos no

pescado (BROWN, 1988; ROSS e ROSS, 1999), a natureza do experimento e a espécie de peixe a ser tratada (SUMMERFELT e SMITH, 1990; MUNDAY e WILSON, 1997).

O anestésico ideal para peixes deve: permitir rápida indução e recuperação da anestesia; não perturbar o equilíbrio fisiológico dos peixes e conseqüentemente não diminuir a chance de sobrevivência após a liberação; permitir a libertação imediata do peixe (ANDERSON et al., 1997); ser rapidamente excretado ou metabolizado, não deixando resíduos; não gerar efeitos cumulativos ou problemas de exposições repetidas e possuir preço acessível (MARKING e MEYER, 1985).

No Brasil não existem leis específicas regularizando o uso de anestésicos. Assim, são geralmente seguidas as recomendações do FDA (US FDA, 1978). O único anestésico aprovado por este órgão é o MS-222, cujo valor comercial é dez vezes maior que o seu similar, a benzocaína (GOMES et al., 2001). A benzocaína tem a vantagem de ser uma solução neutra, causando menos agitação e irritação aos peixes do que o MS-222 (ROUBACH e GOMES, 2001). Anestésicos como o MS-222 e a quinaldina podem induzir problemas olfatórios em peixes (LOSEY e HUGIE, 1994). Além disso, o MS-222 é considerado um produto cancerígeno (PIRHONEN e SCHRECK, 2003).

O MS-222 é o anestésico para peixes mais usado em todo mundo. Comercialmente é vendido com o nome fantasia de Finquel®, comercializado pela Argent nos EUA (ROUBACH e GOMES, 2001). A utilização desse anestésico é limitada nos Estados Unidos, e os peixes só podem ser disponíveis para consumo humano 21 dias após serem expostos a esse fármaco (MEINERTZ et al., 2006). Na Nova Zelândia, para o MS-222 são necessários dez dias de depuração e não existe período específico para a benzocaína (ROSS e ROSS, 2008).

Entre os anestésicos naturais produzidos no Brasil, encontramos o óleo de cravo e o mentol. O uso de óleos essenciais como anestésicos para peixes pode ser uma alternativa viável perante o alto custo e dificuldades de obtenção dos produtos químicos (FAÇANHA e GOMES, 2005).

A maioria dos anestésicos é administrada na água, entretanto podem ser injetados (BOWSER, 2001) ou aplicados diretamente nas brânquias do peixe (ROSS e ROSS, 2008). Em todos os casos, o fármaco deve ser solúvel em água. Entretanto, alguns são primeiramente dissolvidos em um solvente orgânico para depois serem diluídos em água (BOWSER, 2001). Deve-se tomar cuidado com a aplicação destes anestésicos na água, pois os peixes são muito sensíveis às variações do pH, temperatura e conteúdo mineral da água (ROSS e ROSS, 1999).

A maioria dos anestésicos é absorvida nos tecidos, podendo estes acumular resíduos (MARKING e MEYER, 1985). Para eliminar esses resíduos é indispensável que haja depuração dos peixes. O tempo de depuração destes depende do tipo da droga utilizada, da espécie alvo, da concentração e da via de administração, podendo ser de algumas horas a várias semanas (BOOTH, 1988). Mesmo que os resíduos anestésicos presentes nos peixes não sejam prejudiciais ao consumo humano, estes podem comprometer o sabor natural do peixe, quando forem consumidos (STONE e TOSTIN, 1999).

Os anestésicos quando usados extensamente podem causar perda de muco, irritação da brânquia, danos na córnea (INOUE et al., 2003), redução da proteção do peixe contra patógenos oportunistas e aumento da resposta ao estresse, abrindo caminho para infecções por fungos e bactérias (CARNEIRO et al., 2001).

Nos últimos anos, a anestesia e a analgesia dos peixes foram o foco de debates a respeito da necessidade e das técnicas de aplicação e avaliação fisiológica (ROSE, 2002; SNEDDON, 2003, 2004; CHANDROO et al., 2004). Diferentes estudos têm revelado, de fato, significativos resultados de que os peixes podem sentir dor, medo e estresse com influências sobre o seu metabolismo geral (CHANDROO et al., 2004; SNEDDON, 2004; DUNLOP e LAMING, 2005). Isso torna o uso de anestésico indispensável, por força das leis, visando reduzir ao mínimo qualquer dor, sofrimento ou estresse impostos aos animais (SCHNAIDER e SOUZA, 2003).

Como cada anestésico exige uma concentração diferente para induzir o estágio anestésico desejado, é necessário testar várias concentrações (ROUBACH e GOMES, 2001), pois algumas espécies são mais sensíveis, podendo não tolerar algumas doses recomendadas (ROSS et al., 1993). Quanto maior a concentração utilizada, menor o tempo para indução à anestesia, havendo uma relação inversa entre esse tempo e a recuperação (PARK et al., 2008). Um anestésico deve ser eficaz em baixas concentrações e apresentar toxicidade em doses muito superiores às recomendadas, proporcionando uma grande margem de segurança (ROSS e ROSS, 2008).

Utilizar a concentração correta do anestésico é importante para evitar o desperdício ou a morte do animal por excesso do produto. A utilização de quantidade excessiva de anestésicos pode promover alterações metabólicas detectadas somente horas após a exposição, ou ainda a morte dos peixes (PARK et al., 2008).

A necessidade da descoberta de novos anestésicos que ofereçam custos reduzidos e segurança para os peixes tem estimulado pesquisas com novos produtos

anestésicos (GUÉNETTE et al., 2007a), sendo necessários estudos com anestésicos alternativos (KEENE et al., 1998; SLADKY et al., 2001; WAGNER et al., 2002; IVERSEN et al., 2003).

3.2.1. Aplicação direta do anestésico nas brânquias do peixe

Alguns trabalhos usaram sprays ou garrafas de pulverizar para aplicar medicamentos diretamente nas brânquias em peixes maiores, facilitando o manejo desses animais (ROSS e ROSS, 2008).

O método de aspersão do anestésico diretamente nas brânquias é importante devido a pouca viabilidade de serem realizados banhos anestésicos em animais grandes (HONCZARYK e INOUE, 2008).

Os primeiros relatos desse procedimento foram realizados por GILBERT e WOOD (1957), que anestesiaram grandes tubarões aplicando a concentração de 1.000 mg L⁻¹ de MS-222 diretamente nas brânquias destes animais.

KANEKO (1982) utilizou com sucesso sprays contendo 200 mg L⁻¹ do anestésico MS-222 direto nas brânquias de espécies do gênero *Arapaima*.

HONCZARYK e INOUE (2008) concluíram que o óleo de cravo nas concentrações de 30 e 60 mg L⁻¹ mostrou-se viável como anestésico para o pirarucu por aspersão branquial.

3.3. Anestésicos em estudo

3.3.1. Benzocaína

A benzocaína é similar ao MS-222, no entanto, a benzocaína é 250 vezes menos solúvel em água, assim, qualquer solução contendo benzocaína precisa ser diluída em etanol, acetona ou propileno glicol (BURKA et al., 1997; ROSS e ROSS, 1999).

A benzocaína tem sido utilizada para tranquilização, analgesia e anestesia de peixes de várias espécies (OLFERT et al., 1993). É considerado o anestésico mais utilizado no Brasil, pois tem baixo custo no mercado nacional, boa disponibilidade (GOMES et al., 2001; ROUBACH e GOMES, 2001) e boa margem de segurança para os peixes (GILDERHUS e MARKING, 1987; GILDERHUS, 1989), ocorrendo

mortalidades apenas quando os peixes são expostos a uma dose três vezes maior que a recomendada (ROUBACH e GOMES, 2001).

A exposição a este fármaco não implica em redução de crescimento e na atividade reprodutiva do peixe (ROSS e ROSS, 1999; GIMBO et al., 2008). É um anestésico de uso humano e as doses utilizadas em peixes causam poucos danos ao operador (ALLEN, 1988). Esse fármaco pode causar eczema em 2,3% da população amostral de seres humanos (LI et al., 2008).

A benzocaína é considerada um anestésico muito eficaz, podendo ser utilizados em peixes marinhos, de água doce, temperada e tropical (GURNEY, 1996). Geralmente, essa droga nos tecidos dos animais cai para níveis indetectáveis dentro de aproximadamente 24h (ALLEN, 1988). No entanto, o período de carência para consumo humano nos EUA (ROSS e ROSS, 1999) e na Noruega (HORSBERG e SAMUELSEN, 1999) é de 21 dias.

A eficácia da benzocaína é perdida dentro de 3h, tornando-se adequada para manejos inferiores a este período. Nos casos de transportes de peixes, deve-se respeitar o período de 3h para obtenção de bons resultados (HASAN e BART, 2007).

A benzocaína pode ser removida de efluentes utilizando carvão ativado para filtração, não deixando resíduos no meio ambiente. (HOWE et al., 1990). Esta característica levou as autoridades da Austrália, Nova Zelândia e Chile a regularizar o uso da benzocaína (ROUBACH et al., 2005).

Outra forma de utilização da benzocaína é como método químico para realização de eutanásia, mediante overdose do anestésico, administrada por injeção ou imersão, utilizando como referência a dosagem adequada ao tamanho e a espécie de peixe (ROSS e ROSS, 2008). Nos EUA é recomendado para a eutanásia os anestésicos benzocaína, 2-fenoxietanol ou MS-222 (AVMA, 2001), apesar de que este método não pode ser usado com animais que entram na cadeia alimentar humana (ROSS e ROSS, 2008).

Os métodos utilizados para a eutanásia de peixes na ‘University of Michigan’(2005) incluem a imersão, por dez minutos ou mais, em tanques contendo benzocaína em concentrações maiores que 100 mg L⁻¹ de água.

Portanto, a benzocaína vem sendo bastante empregada no Brasil na imobilização de peixes com bons resultados, garantindo condições seguras para o manuseio dos animais durante o manejo diário realizado nas unidades de pesquisas e pisciculturas (INOUE et al., 2004).

3.3.2. Óleo de cravo

O óleo de cravo é considerado uma alternativa eficaz na utilização como anestésico. É um líquido castanho escuro resultante da destilação da haste, folhas, flores e dos brotos das espécies de cravo: *Eugenia caryophyllata* (ISAACS, 1983), *Eugenia aromatica* (CURTIS, 1990), *Caryophyllus aromaticus* (INOUE et al., 2003) e *Syzygium aromaticum* (MAZZAFERA, 2003), nativas da Ásia e adaptadas para a América do Sul. Constituída principalmente dos seguintes compostos: eugenol (70-90%), acetato de eugenol (>17%) e kariofilen 5 (12%) (HEMANI e TANGENDJAJA, 1988), contém terpeno, composto que dá sua característica de óleo, cheiro e sabor (ROSS e ROSS, 1999; TAYLOR e ROBERTS, 1999).

O eugenol, 2-metoxi-4-(2-propenil) fenol, principal componente do óleo de cravo, tem sido relatado como um anestésico alternativo para peixes (MUNDAY e WILSON, 1997; CHO e HEATH, 2000; WOODY et al., 2002; INOUE et al., 2003; ROUBACH et al., 2005). Esse fármaco não tem demonstrado efeitos deletérios aparentes em peixes após a sua utilização (SOTO e BURHANUDDIN, 1995; VIDAL et al., 2006) e está listado no FDA na categoria dos materiais "em geral considerados seguros" (ROSS e ROSS, 1999).

O isômero isoeugenol é aprovado nos EUA como aditivo alimentar, reconhecido como seguro, mas ainda não está aprovado como um anestésico seguro para peixe (FDA, 2002). O óleo de cravo é listado pelo US FDA (1978) como seguro quando utilizado em seres humanos a níveis que não excedam 1500 p.p.m.

O eugenol possui agentes anti-sépticos (SOTO e BURHANUDDIN, 1995; TORT et al., 2002; KILDEA et al., 2004; INOUE et al., 2005), antifúngicos (MOLEYAR e NARASIMHAM, 1992; WALTER et al., 1997), antioxidantes (PULLA REDDY e LOKESH, 1992; RAJAKUMAR e RAO, 1993), antibacterianos (MOLEYAR e NARASIMHAM, 1992; STECCHINI et al., 1993), antivirais (TORT et al., 2002), anticancerígenos (ZHENG et al., 1992) e antitrombóticos (SAEED e GILANI, 1994). Uma característica desejável do eugenol é o fato de apresentar boa velocidade de ação, pois induz rapidamente à anestesia profunda (WOODY et al., 2002; HAJEK et al., 2006).

Esse composto natural vem sendo utilizado pelo homem há séculos na Indonésia como um anestésico tópico para dores de cabeça e nas articulações (SOTO e BURHANUDDIN, 1995). O óleo de cravo tem sido utilizado como anestésico para

peixes em muitos países, com vantagens econômicas e sem propriedades tóxicas aparentes (SOTO e BURHANUDDIN, 1995; MUNDAY e WILSON, 1997; SLADY et al., 2001), sendo também utilizado como aditivo alimentar para as substâncias aromatizadas (MAURA et al., 1989; NAGABABU e LAKSHMAIAH, 1992; GUÉNETTE et al., 2007a), na fabricação de perfumes (MAURA et al., 1989) e como aditivo utilizado em alguns cigarros (GUIDOTTI, 1989).

O óleo de cravo tem sido empregado durante séculos como um analgésico tópico e anestésico local em odontologia (CURTIS, 1990; SOTO e BURHANUDDIN, 1995; DAVIDSON et al., 2000), demonstrando ser extremamente seguro para os seres humanos (WADDELL, 2002), sendo rapidamente absorvido e metabolizado após administração por via oral, e excretado quase que totalmente na urina dentro de 24h (FISCHER et al., 1990).

Esse anestésico não requer um período de carência para consumo da carne dos peixes pelo ser humano, diferente da maioria dos demais fármacos utilizados como anestésicos (KANG et al., 2005), sendo considerado seguro para o meio ambiente (IVERSEN et al., 2003). Assim, o óleo de cravo, a muito tem sido considerado seguro para uso laboratorial (LIU e GIBSON, 1977) e para o manejo nas condições de criação intensiva (DERIGGI et al., 2006; GUÉNETTE et al., 2007a; RIBAS et al., 2007). No entanto, deve-se tomar cuidado no acondicionamento desse fármaco, por se tratar de um anestésico sensível a luz (CHO e HEATH, 2000).

O óleo de cravo vem sendo utilizado em vários países, por se tratar de um produto sem propriedades tóxicas aparentes (SOTO e BURHANUDDIN, 1995; MUNDAY e WILSON, 1997; SLADKY et al., 2001; WOODY et al., 2002), possuindo ainda baixo custo (SOTO e BURHANUDDIN, 1995; ANDERSON et al., 1997; INOUE et al., 2003; CUNHA, 2007) e elevada disponibilidade (INOUE et al., 2003; CUNHA, 2007). Além de todas essas vantagens, o óleo de cravo é facilmente encontrado em lojas de produtos naturais (KEENE et al., 1998).

Mais recentemente, foram descobertas propriedades adicionais do óleo de cravo, tais como efeito anti-inflamatório e de neuroproteção (GUÉNETTE et al., 2007b), sendo também uma substância não-mutagênica (MAURA et al., 1989).

No manejo diário dos animais, o óleo de cravo, possui capacidade de reduzir o estresse do transporte e manuseio (INOUE et al., 2005; CUNHA et al., 2006). Além de ser totalmente eliminado da corrente sanguínea e do tecido muscular de peixes em menos de dois dias após o seu uso (SLADKY et al., 2001; WOODY et al., 2002;

KILDEA et al., 2004), o que agiliza o processo de comercialização da carne de peixes que sofreram ação desse anestésico.

Em alguns estudos com anestésicos para peixes, o eugenol obteve maior capacidade de redução de estresse do que outros anestésicos, especialmente o MS-222 (WAGNER et al., 2002; SMALL, 2003). Por outro lado, o tempo de recuperação do animal, quando submetido ao óleo de cravo, pode ser até 10 vezes superior a recuperação dos peixes submetidos ao MS-222 (ANDERSON et al., 1997; KEENE et al., 1998); esse fato corrobora para que o eugenol possua uma margem de segurança menor, quando comparado com outras substâncias (OKAMOTO et al., 2009), podendo ser usado em concentrações menores do que as utilizadas em outros anestésicos (KEENE et al., 1998). O óleo de cravo, quando comparado com outros anestésicos, pode ser mais vantajoso em procedimentos que exigem maior tempo de anestesia dos animais, podendo ser empregado, por exemplo, em avaliações morfológicas, quando longos períodos de manipulação fora da água estão envolvidos (RODRÍGUEZ-GUTIERREZ e ESQUIVEL-HERRERA, 1995). Como o tempo de recuperação dos animais anestesiados com óleo de cravo é prolongado, os peixes expostos a altas concentrações devem ser monitorados, visto que pode ocorrer redução da ventilação das brânquias e colapso medular (DELBON, 2006).

Em pesquisas com óleo de cravo, os peixes apresentaram reação de hiperatividade ao primeiro contato com o anestésico (GRUSH et al., 2004; VIDAL et al., 2006, 2007a), que diminui à medida que aumenta o efeito do anestésico (VIDAL et al., 2007a). A reação de hiperatividade é atribuída ao próprio óleo de cravo, uma vez que, exemplares de dourado (*Sparus aurata*) e robalo europeu (*Dicentrarchus labrax*) não apresentaram reações adversas à quantidade de álcool utilizado na diluição do anestésico (MYLONAS et al., 2005).

O óleo de cravo foi estudado como anestésico em várias espécies (HIKASA et al., 1986; SOTO e BURHANUDDIN, 1995; KEENE et al., 1998; WATERSTRAT, 1999, 2005; CHANSEAU et al., 2002; WOODY et al., 2002; COYLE et al., 2005; SEOL et al., 2007) e tem sido utilizado por muitos dos aquicultores para induzir diferentes níveis de anestesia com sucesso (HIKASA et al., 1986; MUNDAY e WILSON, 1997; SLADKY et al., 2001; PIRHONEN e SCHRECK, 2003), por se tratar de um anestésico seguro, de grande eficácia e ampla margem de segurança nas doses utilizadas para peixes (KEENE et al., 1998).

3.3.3. Mentol

O mentol é extraído de óleos essenciais das plantas do gênero *Mentha* (*Mentha arvensis* L.), conhecida também como hortelã (MATOS, 2000). Esse fármaco é conhecido por possuir propriedades anestésicas (RUPPERT e BARNES, 1994), antiinflamatórias, antiespasmódicas, antiúlcera e antivirais (LORENZO et al., 2002). Possui eficácia e boa margem de segurança para peixes e para o operador (ROUBACH e GOMES, 2001), além de ser facilmente encontrado no mercado local e em farmácias de manipulação a baixo custo, possuir fácil utilização e conforto à pessoa que o manipula (FAÇANHA e GOMES, 2005).

O mentol é utilizado na anestesia de invertebrados marinhos (RUPPERT e BARNES, 1996), porém não é um anestésico regulamentado para uso em peixes. Seu uso é regulamentado para humanos, sendo utilizado nas indústrias alimentícias e cosmética (SIMÕES e GOMES, 2009).

Existe pouca informação sobre o uso de mentol como anestésico para peixes; sabe-se que é um produto eficaz para indução à anestesia, porém os peixes reagem violentamente, demonstrando que o produto é extremamente irritante (ROUBACH e GOMES, 2001).

Apesar do mentol ser proveniente de uma planta medicinal, ainda não se sabe sobre a existência de resíduos na carcaça ou de alteração no sabor da carne, bem como sobre as alterações fisiológicas nos peixes decorrentes do uso deste fármaco (GONÇALVES et al., 2008). Essas características qualificam o mentol como um anestésico a ser testado quanto à eficiência e segurança, a fim de atestar a eficácia desse fármaco às autoridades responsáveis pela regulamentação de anestésicos para peixes no Brasil (FAÇANHA e GOMES, 2005).

Os comitês de ética em experimentação com animais estão solicitando procedimentos que diminuam o estresse ou proporcionem sofrimento mínimo aos animais, tornando-se importante desenvolver protocolos de anestesia para espécies de peixes (SIMÕES e GOMES, 2009).

Resultados obtidos em pesquisas concluíram que a benzocaína, o óleo de cravo e o mentol reúnem a maior parte dos critérios estabelecidos para anestésicos ideais para peixes (ROSS e ROSS, 1999). No entanto, estudos sobre anestésicos naturais, como o mentol, precisam continuar a serem desenvolvidos.

3.4. Espécies em estudo

3.4.1. Piavuçu *Leporinus macrocephalus* (Garavello & Britski, 1988)

O piavuçu (*Leporinus macrocephalus*) pertence à família Anostomidae, à ordem Characiformes e ao gênero *Leporinus*. A família Anostomidae se caracteriza por peixes de escamas, corpo alongado e fusiforme, nadadeira anal curta e dorsal implantada ao nível médio do corpo (FERREIRA et al., 1998). A boca do piavuçu é pequena e terminal com dentes em fórceps e são importantes nadadores e saltadores, frequentemente encontrado em águas abertas (McCONNEL, 1999). Os jovens de *Leporinus* se caracterizam por apresentarem pigmentação intensamente distribuída pelo corpo e nadadeira adiposa com borda pigmentada (NAKATANI et al., 2001).

O gênero *Leporinus*, Characiformes Anostomidae neotropicais, apresenta grande número de espécies descritas, aproximadamente 60 (GARAVELLO e BRITSKI, 1988). Dentre as espécies desse gênero, o *L. macrocephalus* é a que apresenta maior porte, razão pela qual é considerada de grande importância econômica para a pesca no Pantanal Matogrossense (GARAVELLO e BRITSKI, 1988), podendo atingir 7 kg (BEZERRA e SILVA, 1997).

A espécie é vulgarmente conhecida por piavuçu, piaussu, piaçu ou piau, sendo proveniente das bacias do rio Paraguai (GARAVELLO e BRITSKI, 1988) e do Prata (PNDPA, 2003). Essa espécie de peixe é apreciada na pesca esportiva em sistema de pesque-pague, por apresentar características desejáveis para esta atividade (SOARES et al., 2000; GONÇALVES e FURUYA, 2004).

O piavuçu devido ao seu grande desempenho é a espécie deste gênero mais criada de forma intensiva em cativeiro para comercialização. Nas fases iniciais do seu ciclo de vida, larva ou pós-larva, é a mais facilmente obtida (RIBEIRO et al., 2001).

Dentre as espécies de peixes nativas do Brasil o piavuçu apresenta grande potencial para a piscicultura e tem sido largamente cultivado por apresentar rápido crescimento, aceitar dietas artificiais (CASTAGNOLLI, 1992), possuir carne saborosa (SOARES et al., 2000; GALDIOLI et al., 2001), resistência às variações de temperatura (BOSCOLO et al., 2005), hábito alimentar onívoro, rusticidade e bons índices zootécnicos (SOARES et al., 2000; GALDIOLI et al., 2001). Também apresenta boa aceitação no mercado por colecionadores de peixes ornamentais (VIDAL et al., 2007b).

Essa espécie de peixe vem sendo muito utilizada na piscicultura, sendo facilmente encontrada nos estados das regiões sul e sudeste do Brasil (FURUYA, 2001).

Por possuir hábito alimentar onívoro, o piavuçu pode utilizar ampla gama de alimento, sendo frequente a utilização de vegetais, sementes (ANDRIAN et al., 1994), insetos e eventualmente moluscos na dieta desses animais (CASTAGNOLLI, 1992).

O piavuçu é uma espécie reofílica, portanto, realiza a piracema para se reproduzir (REYNALTE-TATAJE et al., 2002), migra em direção à cabeceira dos rios onde se reproduz, de novembro a janeiro (BRITSKY, 1999), período de chuva e de temperatura elevada. A fecundação é externa e não cuidam da prole (VAZZOLER, 1996). Essa espécie necessita de indução hormonal para se reproduzir em cativeiro (CASTAGNOLLI, 1992), podendo ser capturada na beira e no canal dos rios, baías e na jusante de quedas d'água, principalmente nas adjacências da vegetação (PNDPA, 2003).

Essa espécie também apresenta comportamento agitado durante o manejo, podendo apresentar ferimentos ao final dos procedimentos (TATAJE e ZANIBONI FILHO, 2005).

3.4.2. Curimbatá *Prochilodus lineatus* (Valenciennes, 1836)

O curimbatá (*Prochilodus lineatus*) pertence à família Prochilodontidae e ao gênero *Prochilodus*. O gênero *Prochilodus* é amplamente distribuído pela América do Sul. No Brasil está presente em todas as principais bacias hidrográficas, sendo *P. lineatus* a espécie mais comum de captura na Bacia do Paraná (CASTAGNOLLI, 1992).

Esse peixe, Characiforme Prochilodontidae, é caracterizado como iliófago ou detritívoro (ALMEIDA et al., 1993; FUGI et al., 1996), alimenta-se basicamente de detritos orgânicos, fauna bentônica e ração (CASTAGNOLLI, 1992). Como consequência do seu hábito alimentar, exerce importante função dentro dos sistemas aquáticos que habita (JEPSEN et al., 1997). Esta espécie prefere ambientes lóticos, em locais de águas mais lentas (REIS et al., 2003). O curimbatá, por ser abundante em planícies de inundação, é de grande importância na pesca do Pantanal Matogrossense (ALMEIDA et al., 1993).

Possui corpo alto, alongado, comprimido e cabeça larga, podendo atingir mais de 74 cm de comprimento corporal (SVERLIJ et al., 1993) e peso corporal superior a 6 kg (CRUZ, 2001). Caracteriza-se por possuir lábios grossos, móveis, providos de várias

séries de minúsculos denticulos (BEZERRA e SILVA, 1997). As escamas dos machos são ásperas na borda exposta, sobretudo na época reprodutiva (CEMIG/CETEC, 2000).

O curimatá é uma espécie reofílica e se reproduz no canal dos rios (MACHADO, 2007), realizando amplos deslocamentos migratórios em massa rio acima na época da reprodução (AGOSTINHO et al., 2007). A fecundação é externa e não cuidam da prole (VAZZOLER, 1996).

O curimatá é uma das espécies de peixes de água doce com grande significado na piscicultura comercial (CERQUEIRA e FERNANDES, 2002), sendo muito apreciado na culinária dos estados da região nordeste do Brasil (MAIA et al., 1999). São peixes prolíficos de crescimento rápido, elevada rusticidade (BRITSKI, 1972) e de fácil manejo, o que os tornam favoráveis para o cultivo (MILIORINI, 2006). Outro aspecto interessante no cultivo dessa espécie é que suas larvas são utilizadas como alimento de espécies carnívoras na fase larval (MURGAS et al., 2003; MILIORINI, 2006; ORFÃO, 2006).

Em pisciculturas de engorda o curimatá é a principal espécie utilizada para o controle da qualidade da água, por ajudar a reduzir a quantidade de matéria orgânica depositada no fundo dos viveiros (ALLAMAN, 2008). É também de muita importância econômica e social para a pesca artesanal, de subsistência e esportiva, por apresentar carne saborosa, sendo muito procurada pela população ribeirinha (VAZ et al., 2000; BARBIERI et al., 2004).

3.4.3. Trairão *Hoplias lacerdae* (Ribeiro, 1908)

O trairão (*Hoplias lacerdae*) pertence à família Erythrinidae e ao gênero *Hoplias*. A família Erythrinidae (Characimorfes) é formada de animais de água doce que se distribuem nas regiões tropicais e subtropicais da América do Sul e são vulgarmente conhecidas como trairões, traíras e jejuns. (PAIVA, 1974)

Dentro da família Erythrinidae, o gênero *Hoplias* se distingue dos demais por apresentar dentes caninos no maxilar (BRITSKI et al., 1988).

O trairão é nativo da bacia Amazônica (ANDRADE et al., 1998) e endêmico da bacia do Rio Ribeira do Iguape, São Paulo e Paraná (OYAKAWA, 2003). Porém o gênero *Hoplias* é amplamente distribuído pelas bacias hidrográficas brasileiras (BORN e BERTOLLO, 2006).

É uma espécie de hábito alimentar carnívoro e apresenta baixas taxas de sobrevivência em função do elevado nível de canibalismo nos primeiros dias de vida (LUZ e PORTELLA, 2002a; NOGUEIRA, et al., 2005). Pode alcançar 1,0 m de comprimento e 15,0 kg (BRITSKI et al., 1988). A fecundação é externa, cuida da prole e não realiza migrações (VAZZOLER, 1996).

O trairão tem se destacado dentre as espécies carnívoras brasileiras por adaptar-se às condições de cativeiro (ANDRADE et al., 1998); pela viabilidade de se obter altas taxas de sobrevivência durante a larvicultura (LUZ e PORTELLA, 2002a,b); pela facilidade para desovar naturalmente em cativeiro; pela elevada taxa de ganho de peso; pela rusticidade; pelo sedentarismo, o que resulta em menor consumo de energia (GONTIJO, 1984); por se desenvolver em águas com temperatura na faixa de 24 a 32°C (ANDRADE et al., 1998) e por aceitar dietas artificiais (LUZ e PORTELLA, 2002a; NOGUEIRA et al., 2005), sendo considerado de grande potencial para a piscicultura. Outra característica interessante que favorece a criação desses animais em cativeiro é que, peixes da família Erythrinidae toleram alterações abruptas do ambiente, tais como, baixas concentrações de oxigênio (RANTIN et al., 1992).

Os bons índices zootécnicos obtidos por essa espécie, quando em cativeiro, e o mercado consumidor, cada vez mais exigente, também colaboram para o sucesso da sua produção (LUZ, 2004), o que coloca essa espécie em destaque tanto na produção comercial quanto em condições experimentais (OSTRENSKY et al., 2000). O trairão ainda apresenta carne de excelente qualidade e características desejáveis para a pesca esportiva (ANDRADE et al., 1998), sendo muito apreciado por pescadores e populações ribeirinhas (CRUZ et al., 2005).

4. MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi realizado no laboratório do Ranário Experimental, do Departamento de Biologia Animal, da Universidade Federal de Viçosa, UFV, Viçosa, MG, em parceria com a piscicultura do Dr. João Teixeira, localizada na zona rural do município de Viçosa, MG, durante o mês de junho de 2009. Foram testados três anestésicos em quatro concentrações diferentes, utilizando-se três espécies de peixes.

4.1. Animais em Estudo

Foram utilizados peixes adultos, dentre machos e fêmeas, provenientes da Piscicultura do Dr. João Teixeira, no qual o tamanho e a área branquial dos animais não se diferenciaram significativamente (Tabela 1).

TABELA 1. Comprimento padrão médio (CPM) e peso médio (PM) das espécies em estudo: Piavuçu, curimbatá e trairão

Espécies	(CPM) cm	(PM) Kg
Piavuçu (<i>Leporinus macrocephalus</i>)	39,2 ± 4,4	1,34 ± 0,41
Curimbatá (<i>Prochilodus lineatus</i>)	39,3 ± 3,7	1,36 ± 0,23
Trairão (<i>Hoplias lacerdae</i>)	41,3 ± 7,6	1,33 ± 0,73

4.2. Condições Ambientais

Os peixes utilizados nesse experimento foram estocados em tanques de terra (20m X 10m) (Figura 1), aos quais que já estavam ambientados.



FIGURA 1. Tanques escavados utilizados para estocagem dos animais adultos (piavuçu, curimbatá e trairão) para estudos de anestésicos.

Foi aferida a temperatura, por meio de termômetro digital a laser, dos tanques onde os peixes ficavam estocados, do tanque de recuperação e dos peixes, sempre que os animais eram manuseados (Tabela 2). De acordo com SCHMIDT-NILSEN (2002), a temperatura corporal dos peixes é igual àquela do meio ambiente em que habitam, cujo aumento eleva a taxa metabólica dos animais.

TABELA 2. Temperatura em °C dos tanques de estocagem (TE), do tanque de recuperação (TR) e das espécies em estudo (TES): Piavuçu, curimbatá e trairão

Espécies	(TE)	(TR)	(TES)
Piavuçu (<i>Leporinus macrocephalus</i>)	17,2 ± 0,91	17,8 ± 0,	17,9 ± 0,77
Curimbatá (<i>Prochilodus lineatus</i>)	18,3 ± 0,62	18,4 ± 0,84	18,8 ± 0,82
Trairão (<i>Hoplias lacerdae</i>)	18,4 ± 1,41	17,3 ± 1,7	17,8 ± 0,72

4.3. Indução da anestesia, Tempo de sedação em bancada e Recuperação anestésica

Foram utilizados 12 peixes para cada tratamento, sendo três peixes para cada concentração, e testados por meio de tratamentos dos anestésicos com as respectivas concentrações em piavuçu e curimatá: óleo de cravo (em mg L⁻¹) 100, 125, 150 e 175; benzocaína (em mg L⁻¹): 100, 125, 150 e 175 e mentol (em mg L⁻¹): 100, 125, 150, 175. Devido a testes feitos com as concentrações anteriores em trairão, e as mesmas não responderam positivamente, optou-se por concentrações superiores as utilizadas nos outros animais, afim de não colocar em risco os manipuladores por se tratar de um animal agressivo e voraz. Deste modo, utilizaram-se as concentrações (em mg L⁻¹): 150, 175, 200 e 250 para os três anestésicos em trairão.

O óleo de cravo foi previamente diluído em etanol na concentração de 1g/10mL devido às suas características hidrofóbicas (INOUE et al., 2003). O álcool etílico não é um anestésico para peixes quando em baixas doses (ANDERSON et al., 1997; MUNDAY e WILSON, 1997), e não tem nenhum efeito de anestesia em peixes (GRIFFITHS, 2000). A benzocaína e o mentol foram adquiridos em farmácia de manipulação já diluídos em etanol.

Os animais que passaram pelo processo de anestesia sofreram restrição alimentar por 24h antes do procedimento, uma vez que a alimentação interfere na ação do fármaco (BROWN, 1993).

Após a restrição alimentar, os piavuços e curimatás foram capturados com rede de arrasto em malha grossa (4,0 cm entre nós). Os trairões foram capturados utilizando-se tarrafas (1,8 cm entre nós) devido a sua agressividade e voracidade. Após a captura, os animais foram transportados para o laboratório em baldes com capacidade de 60L e acondicionados em tanguês com capacidade de 300L. Para aplicação dos anestésicos, os peixes foram coletados individualmente utilizando um puçá em malha grossa (3,0 cm entre nós). Em seguida, cada animal foi individualmente envolvido em toalha úmida para minimizar o estresse, e levado para a bancada onde foi executada a anestesia usando borrifador com capacidade de 500 mL para aspersão das soluções aquosas direto nas brânquias (Figura 2). Em cada brânquia foi borrifado 10 mL da solução anestésica, sendo que, cada borrifada corresponde a 1 mL de solução anestésica.



FIGURA 2. Exemplar adulto de curimatá (*Prochilodus lineatus*) submetido à anestesia por aspersão do anestésico na brânquia.

A não resposta a estímulos externos foi utilizada como indicativo da ação do anestésico. O estágio de anestesia atingido levou em consideração as alterações na frequência dos batimentos operculares e da capacidade do animal em responder a estímulos. O parâmetro observado para a indução foi ausência de movimentos dos peixes. Em seguida, foi estabelecido o estágio anestésico atingido, seguindo-se a metodologia proposta por ROSS e ROSS (1999) (Tabela 3), com exceção do parâmetro natação do animal.

TABELA 3. Estágios de anestesia em peixes

Estágio	Descrição	Resposta Comportamental em Peixes
0	Normal	Reativos a estímulos externos; batimentos operculares normais; reação muscular normal
I	Sedação leve	Reativos a estímulos externos; movimentos reduzidos, batimentos operculares mais lentos; equilíbrio normal
II	Sedação profunda	Perda total da reatividade aos estímulos externos exceto forte pressão; leve queda do movimento opercular; equilíbrio normal
III	Narcose	Perda parcial do tônus muscular; natação errática, aumento dos movimentos operculares; reativos apenas a forte estímulo tátil ou vibração
IV	Anestesia profunda	Perda total de tônus muscular; perda total de equilíbrio; batimento opercular lento, porém regular
V	Anestesia cirúrgica	Ausência total de reação, mesmo a forte estímulo; movimentos operculares lentos e irregulares; batimentos cardíacos lentos; perda total de todos os reflexos
VI	Colapso medular	Parada da ventilação; parada cardíaca; morte eventual

Modificado de Ross e Ross (1999).

O tempo que o animal ficou anestesiado sobre a bancada foi monitorado, esse tempo foi registrado até o animal apresentar o primeiro movimento. Após anestesia foram realizadas a biometria e a marcação dos animais (fazendo-se uma simulação de trabalho realizado na prática do cultivo).

Para a medida do comprimento padrão utilizou-se trena, com comprimento máximo de 2 m, e para a obtenção do peso cada animal foi acondicionado em um saco plástico, sendo pesados em balança portátil eletrônica, capacidade de 50 Kg e precisão de 20 g (Figura 3). A marcação dos animais foi feita, utilizando-se miçangas de cores diferentes para identificação dos tratamentos. As miçangas foram amarradas com nylon em uma das nadadeiras pélvica. A marcação é uma estratégia técnica importante tanto em estudos experimentais ou de produção em escala comercial, quanto em estudos de dinâmica de populações de peixes em ambientes naturais, pois através desta é possível estabelecer um histórico individual dos animais

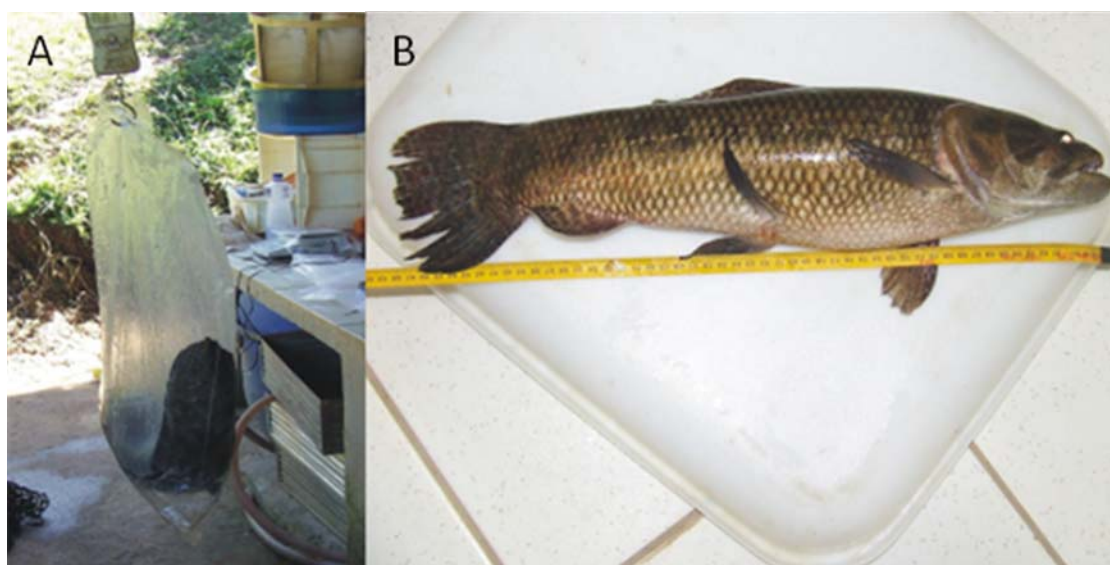


FIGURA 3. Realização da biometria em exemplar adulto de trairão (*Hoplias lacerdae*).
(A) Pesagem; (B) Medição de comprimento padrão.

Em seguida, cada animal foi transportado e acondicionado em um aquário com capacidade de 300L, suficiente para cobrir o peixe, e água corrente com vazão de 18L/min para a recuperação da anestesia. A vazão e o tempo de residência na água influenciam a oxigenação e, conseqüentemente, a eliminação de anestésico na água do tanque de recuperação.

O tempo necessário para a indução à anestesia e recuperação foi monitorado com o uso de cronômetro.

O peixe foi considerado recuperado quando apresentou total equilíbrio e capacidade normal de nado, referente ao estágio V de acordo com HIKASA et al. (1986) (Tabela 4).

Após os testes de indução e recuperação anestésicas dos animais, os mesmos ficaram em observação durante sete dias nos tanques de origem para avaliação da mortalidade e alimentação. O consumo de alimento é um dos critérios seguros para avaliar a saúde de um animal submetido à anestesia (JOBILING et al., 2001).

TABELA 4. Estágios de recuperação anestésica em peixes

Estágio	Resposta comportamental
I	Reaparecimento dos movimentos operculares
II	Retorno parcial do equilíbrio e da capacidade de nado
III	Recuperação total do equilíbrio
IV	Nado e reação para estímulos externos ainda vacilantes
V	Total recuperação do equilíbrio e capacidade normal de nado

Modificado de Hikasa et al. (1986).

4.4. Avaliação da permanência no estado de anestesia

Para avaliação deste estudo foi verificado a possibilidade de manter os reprodutores de trairão, piavuçu e curimatá anestesiados por um tempo suficiente para a realização de práticas de manejo rápidas, tais como, biometria, injeções, marcação e extrusão. De acordo com INOUE et al. (2003), ROUBACH et al. (2005) e BARBOSA et al. (2007), mesmo se as concentrações do anestésico fossem aumentadas, pouco se prolongaria o tempo disponível para o manejo. Esse aumento de dosagem proporcionaria a indução à anestesia mais rápida e não a indução à anestesia mais duradoura, que estaria relacionada à irrigação/saturação por mais tempo das lamelas

pelo anestésico. Além disso, os riscos por superdosagens, como danos branquiais, consequências metabólicas e mortalidade, também aumentariam (TORT et al., 2002; INOUE et al., 2003; IVERSEN et al., 2003; BARBOSA et al., 2007).

4.5. Análise estatística

O experimento foi disposto segundo o esquema de parcelas subdivididas, tendo nas parcelas os anestésicos e nas subparcelas as concentrações de avaliação em D.I.C. com três repetições.

Os dados foram analisados por meio de análise de variância e regressão. Para o fator qualitativo (anestésico), as medias foram comparadas utilizando-se o teste de TUKEY, adotando-se o nível de 5% de probabilidade. Para o fator quantitativo, os modelos foram escolhidos baseados na significância dos coeficientes de regressão utilizando-se o teste t, adotando-se o nível de 5% de probabilidade, no coeficiente de determinação ($R^2 = S.Q.regressão/S.Q.Tratamento$) e no fenômeno biológico.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dentre as vantagens da anestesia pelo método de aspersão branquial em peixes destacam-se o menor consumo de anestésico em animais grandes, podendo a técnica ser empregada assim que o animal for retirado do tanque.

Este método leva a maior quantidade do anestésico nas lamelas branquiais, e consequentemente entrada mais rápida na corrente sanguínea, levando de forma mais rápida a depressão do sistema nervoso central e assim ao estágio anestésico (ROSS e ROSS, 2008).

Foram necessárias duas pessoas para submeter os animais ao método anestésico, e não causar ferimentos nos mesmos, uma vez que os animais se debateram durante a indução anestésica. À medida que o animal entrava em processo anestésico, os mesmos diminuía a agitação.

No presente trabalho, as concentrações testadas com óleo de cravo, benzocaína e mentol não levaram os animais ao estágio de anestesia profunda. Provavelmente se as brânquias fossem irrigadas por mais tempo com a solução anestésica, ou se fossem utilizadas concentrações superiores, o animal poderia chegar ao estado de anestesia profunda.

5.1. Piavuçu (*Leporinus macrocephalus*)

Não houve diferença significativa em relação ao tempo de indução anestésica para a espécie. Em relação ao tempo de recuperação da anestesia (TR) verificou-se o efeito dos anestésicos nos piavuços ao nível de 5% de probabilidade, não sendo verificado efeito da concentração e da interação anestésico x concentração (Tabela 5). Por meio da análise de regressão não verificou efeito da concentração ($p > 0,05$) para a variável tempo de retorno anestésico, obtendo-se a equação $\hat{Y} = TR = 220,45$, isto significa que para qualquer que seja a concentração de óleo de cravo ou benzocaína testada a resposta é a mesma.

TABELA 5. Resumo da Análise da variância da variável TR (tempo de recuperação) em função do anestésico (AN) e concentração (CO) em piavuçu (*Leporinus macrocephalus*)

C. V (coeficiente de variação)	F.V (fator de variação)	Quadrados Médios
AN	1	785902,0*
Resíduo (a)	4	108733,0
CO	3	208401,6 ^{NS}
CO x AN	3	255240,4 ^{NS}
Resíduo (b)	12	196471,8
C.V (%) Parcela	149,57	
C.V (%) Subparcela	201,06	

* F Significativo a 5 %

^{NS} F Não Significativo a 5 %

Na tabela 6 encontram-se os valores médios de TR (tempo de recuperação em segundos) para os respectivos anestésicos, demonstrando que o TR para os peixes expostos ao óleo de cravo é cerca 10 vezes superior ao tempo de recuperação dos animais anestesiados com benzocaína.

TABELA 6. Valores Médios de TR (tempo de recuperação em segundos) para os respectivos anestésicos em piavuçu (*Leporinus macrocephalus*)

AN	TR
Óleo de cravo	401,41 a
Benzocaína	39,50 b
Mentol não induziu à anestesia	

As médias com letras diferentes diferem ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

VIDAL et al. (2007b) ao exporem juvenis de piavuçu ($1,77 \pm 0,69$ g) a diferentes concentrações de óleo de cravo, também não observaram diferença significativa quanto à indução anestésica em relação às concentrações 100; 125 e 150 mg L⁻¹.

GIMBO et al. (2008) concluíram que as concentrações (50, 75, 100 e 125 mg L⁻¹) de benzocaína testadas não influenciaram significativamente o tempo de recuperação para lambari-do-rabo-amarelo (*Astyanax altiparanae*) com peso médio de 3,5 ± 1,7 g. Por outro lado, VIDAL et al. (2008) testando 50, 75, 100, 150, 200 e 250 mg L⁻¹ de eugenol, constataram que a recuperação só apresentou diferença significativa a partir dos 200 mg L⁻¹, em juvenis de tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*) com peso médio de 5,34 g.

5.1.1. Óleo de cravo

A resposta dos piavuços expostos as concentrações 100, 125, 150 e 175 mg L⁻¹ de óleo de cravo foi a mesma em relação ao tempo de indução e de recuperação anestésica, não havendo diferenças significativas.

Os piavuços foram perdendo a reação aos estímulos ao toque logo que exposto ao anestésico por aspersão de solução aquosa nas brânquias. O tempo para indução à perda de reação a estímulos foi semelhante em relação às concentrações testadas.

Os piavuços expostos às concentrações de óleo de cravo anestesiaram-se referente ao estágio III de anestesia, denominado por ROSS e ROSS (1999) como narcose. O peixe apresentou os batimentos operculares mais lentos e em seguida o aumento dos mesmos. As concentrações testadas induziram à anestesia em média 10 segundos (menor e maior tempo de indução anestésica foi de 8 e 12 segundos, respectivamente). Os animais reagem apenas sobre forte estímulo tátil.

Analisando o comportamento dos piavuços submetidos à anestesia, foram verificados que os mesmos eliminaram anestésico pela boca e se debateram muito durante o processo de indução anestésica com óleo de cravo. A agitação do animal foi diminuindo à medida que o efeito do anestésico se instalava.

Alguns estudos com óleo de cravo, GRUSH et al. (2004) e VIDAL et al. (2006, 2007a) descreveram reação de irritação evidenciada pela hiperatividade ao primeiro contato do peixe com o anestésico. O mesmo comportamento de hiperatividade foi evidenciado por VIDAL et al. (2007b) em juvenis de piavuçu (1,77 ± 0,69 g) ao serem submetidos a óleo de cravo. MYLONAS et al. (2005) expuseram peixes em solução de etanol e os mesmos não apresentaram indução anestésica, ou qualquer modificação aparente no comportamento, demonstrando que essa reação é atribuída ao próprio anestésico. Da mesma forma, exemplares de paulistinha (*Danio rerio*) expostos a 1.400

mg L⁻¹ de álcool durante 96h não apresentaram mudança no padrão comportamental (GRUSH et al., 2004).

O efeito da anestesia em piavuços teve duração média de $4,0 \pm 0,9$ minutos, tempo suficiente para realização de práticas de manejo rápidas, tais como, biometrias, injeções, marcações e extrusões.

Durante a recuperação o animal apresentou retorno parcial do equilíbrio para posteriormente apresentar natação ainda vacilante, até total recuperação do equilíbrio e dos batimentos operculares.

O tempo de retorno anestésico dos piavuços expostos ao óleo de cravo foi em média $6,7 \pm 1,3$ minutos, aparentemente não sendo verificada nenhuma anormalidade nos mesmos, sendo considerado um anestésico ideal nas concentrações testadas.

SOTO e BURHANUDDIN (1995) após utilizarem o eugenol em alevinos de “Goldenspot spinefoot”, monitoraram os animais durante uma semana e não observaram a ocorrência de doenças e/ou mortalidade. Da mesma forma, SOUZA JUNIOR e ALVES JUNIOR (2006) não relataram sinais de seqüela nos juvenis de robalo-flecha (*Centropomus undecimalis*) tratados com eugenol.

Os piavuços expostos às soluções de óleo de cravo retornaram à alimentação 48h após serem submetidos à anestesia, não ocorrendo a morte dos animais expostos aos diferentes tratamentos de óleo de cravo durante o período do experimento. A ausência de mortalidade nos piavuços submetidos à anestesia com óleo de cravo sugere que o valor crítico de estresse, a partir do qual ocorre morte dos indivíduos, não foi atingido para a espécie.

Outra característica a ser observada na escolha do anestésico é a sua segurança para os peixes a fim de que não cause efeitos deletérios subletais. Durante o tempo de observação de sete dias e após recuperação dos piavuços não foi detectada nenhuma reação atípica em relação à coloração e natação dos mesmos, demonstrando que os animais estavam saudáveis e que o óleo de cravo é adequado para utilização durante o manejo de piavuçu.

A anestesia de piavuçu com óleo de cravo proporcionou segurança para os manipuladores e para os animais durante as práticas de manejo, sem a observação de estresse adicional nos peixes.

5.1.2. Benzocaína

As concentrações de benzocaína testadas (100, 125, 150 e 175 mg L⁻¹) nos piavuços não diferenciaram significativamente entre si em relação ao tempo de indução e recuperação anestésica. Isto significa que a resposta foi a mesma para qualquer concentração de benzocaína testada, tanto para a indução, quanto para a recuperação anestésica.

O peixe logo que exposto ao anestésico foi perdendo a reação ao toque. O tempo para indução à perda de reação a estímulos foi semelhante em relação às concentrações testadas.

Todos os piavuços expostos às concentrações de benzocaína adquiriram o estágio III de anestesia, denominado por ROSS e ROSS (1999) como narcose, caracterizado por apresentar aumento dos movimentos operculares; reativos apenas a forte estímulo tátil ou vibração.

As concentrações testadas induziram à anestesia em média 12 segundos (10 e 14 segundos, para o menor e maior tempo, respectivamente). Primeiro o animal apresentou os batimentos operculares mais lentos e em seguida o aumento dos mesmos.

O tempo do efeito da anestesia nos piavuços foi em média $3,5 \pm 1,0$ minutos, tempo suficiente para realização de práticas de manejo rápidas.

O tempo de recuperação anestésica dos piavuços expostos às diferentes concentrações testadas de benzocaína foi em média $39 \pm 1,3$ segundos.

Os piavuços expostos as concentrações de benzocaína retornaram à alimentação 48h após serem submetidos à anestesia. O retorno à alimentação é um bom indício da saúde do animal.

Ocorreram as mortes, dois dias após o experimento, de um piavuçu anestesiado com benzocaína na concentração de 100 mg L⁻¹ e de dois animais expostos à concentração de 125 mg L⁻¹.

O estresse causado pelo manejo de captura no tanguê pode ter sido a causa da morte dos piavuços expostos a benzocaína, uma vez que já havia passado 24h da anestesia e os animais retornaram à anestesia em tempo muito rápido. A resposta ao estresse abre caminho para infecções por fungos e bactérias (SCHRECK, 1996), podendo causar a morte destes animais (DURVILLE e COLLET, 2001). Peixes em condições de estresse sofrem alterações dos parâmetros respiratórios e cardíacos. Assim, é esperado que as taxas de passagem de água e sangue pelas brânquias fiquem alteradas,

podendo dificultar a excreção de compostos nitrogenados (BARBOSA et al., 2007). Diante deste fato, estudos relacionados ao nível de estresse causado pela benzocaína em piavuços devem ser realizados.

Os anestésicos são considerados substâncias apolares e sua retenção nos tecidos corporais está diretamente relacionada aos níveis de gordura teciduais (WALSH e PEASE, 2002), portanto, esta droga pode acumular nos peixes adultos (STOSKOPF, 1993) ou em fêmeas com ovos (ROSS e ROSS, 2008), o que também pode ter causado a morte dos piavuços.

ROSS e ROSS (1983) observaram uma leve redução no consumo de oxigênio durante a manipulação de peixes anestesiados com benzocaína, mas esse déficit pode ter sido compensado mais tarde, pois níveis muito elevados de consumo de oxigênio foram registrados durante a recuperação, o que também é uma possibilidade da causa da morte de piavuços.

Outra possível causa da morte destes animais seria o fato do método de aspersão de anestésico nas brânquias dos peixes ter causado danos nas mesmas. A utilização de quantidade excessiva de anestésicos pode promover alterações metabólicas detectadas somente horas após a exposição, ou ainda causar a morte dos peixes (PARK et al., 2008). No entanto, não foram detectados danos aparentes como sangramentos nas brânquias desses animais.

A benzocaína possui boa margem de segurança para os peixes (GILDERHUS e MARKING, 1987; GILDERHUS, 1989), ocorrendo mortalidades apenas quando os peixes são expostos a uma dose três vezes maior que a ideal (ROUBACH e GOMES, 2001). Geralmente, a benzocaína nos tecidos dos animais cai para níveis indetectáveis dentro de aproximadamente 24h (ALLEN, 1988).

GIMBO et al. (2008) ao exporem lambari-do-rabo-amarelo (*Astyanax altiparanae*) com peso médio de $3,5 \pm 1,7$ g a diferentes concentrações de benzocaína observaram 72,5% de mortalidade nos peixes expostos à concentração de 125 mg L^{-1} . Por outro lado, GOMES et al. (2001) observaram que não houve mortalidade em juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum*) expostos a 100 mg L^{-1} de benzocaína por até 30 minutos, mas que estes exibiram uma recuperação em tempo prolongado.

O comportamento dos animais revela informações importantes a respeito de sua condição fisiológica. Durante o tempo de observação e após recuperação dos espécimes, não foi detectada nenhuma reação fora do normal, a natação e a coloração dos animais se encontravam normais, comprovando que os animais estavam aparentemente

saudáveis e que a benzocaína é adequada para utilização durante o manejo de piavuçu. A benzocaína proporcionou segurança para os manipuladores e para os animais durante as práticas de manejo, sem a observação de estresse adicional nos peixes.

5.1.3. Mentol

Nenhuma concentração de mentol (100, 125, 150 e 175 mg L⁻¹) foi capaz de induzir a anestesia em piavuços, nem mesmo o efeito sedativo foi atingido, havendo grande dificuldade em realizar a biometria nesses animais, devido a hiperatividade dos mesmos.

As concentrações de mentol utilizadas podem ter sido inferior à necessária para atingir o ponto de anestesia ou o número de borrifadas nas brânquias pode ter sido insuficiente para induzir a anestesia em reprodutores. Em função da não eficácia do mentol quando utilizado nestas concentrações, seriam oportunas novas avaliações com quantidade superior a dez borrifadas nas brânquias dos peixes ou com concentrações superiores a do estudo.

Não ocorreu a morte dos piavuços expostos aos diferentes tratamentos de mentol durante o período do experimento e os mesmos retornaram à alimentação em 48h.

O piavuçu é a espécie do gênero *Leporinus* mais criada de forma intensiva em cativeiro para comercialização, no entanto, realiza piracema (REYNALTE-TATAJE et al., 2002), necessitando de indução hormonal para se reproduzir em cativeiro. O uso de anestésico poderia facilitar o manejo durante a sua reprodução em laboratório.

Essa espécie é bem agitada durante o manejo, o que aumenta as chances de ocorrerem ferimentos no peixe e no manipulador, sendo o risco agravado em peixe de grande porte. Portanto, o uso de anestésico, com exceção do mentol, reduziu a motilidade e facilitou o manejo de piavuçu. Animais muito agitados tendem a sofrer mais ferimentos durante procedimentos de manejo, aumentando a suscetibilidade dos peixes a infecções por fungos e bactérias (INOUE et al., 2003; VIDAL et al., 2006).

5.2. Curimatá (*Prochilodus lineatus*)

Não foi verificada diferença significativa em relação ao tempo de indução à anestesia em curimatá. Em relação ao tempo de recuperação da anestesia verificou-se o efeito dos anestésicos nos curimatás ao nível de 5% de probabilidade, não sendo

verificado efeito da concentração e da interação anestésico x concentração (Tabela 7). Por meio da análise de regressão não se verificou efeito da concentração ($p > 0,05$) para a variável tempo de recuperação da anestesia, obtendo-se a equação $\hat{Y} = TR = 233,8$, isto significa que para qualquer que seja a concentração de óleo de cravo, benzocaína ou mentol testada a resposta é a mesma.

TABELA 7. Resumo da Análise da variância da variável TR (tempo de recuperação) em função do anestésico (AN) e concentração (CO) em curimbatá (*Prochilodus lineatus*)

C. V (coeficiente de variação)	F.V (fator de variação)	Quadrados Médios
AN	2	1258021,0*
Resíduo (a)	6	120505,6
CO	3	262789,8 ^{NS}
CO x AN	6	231339,8 ^{NS}
Resíduo (b)	18	347540,1
C.V (%) Parcela	148,47	
C.V (%) Subparcela	252,11	

* F Significativo a 5 %

^{NS} F Não Significativo a 5 %

Na tabela 8 encontram-se os valores médios de TR (tempo de recuperação em segundos) para os respectivos anestésicos, demonstrando que o tempo de retorno à anestesia dos peixes expostos ao óleo de cravo é maior.

TABELA 8. Valores Médios de TR (tempo de recuperação anestésica em segundos) para os respectivos anestésicos (AN) em curimbatá (*Prochilodus lineatus*)

AN	TR
Óleo de cravo	604,0 a
Benzocaína	93,6 b
Mentol	3,75 c

As médias com letras diferentes diferem ao nível de 5% de probabilidade pelo teste TUKEY.

INOUE et al. (2003) concluíram não haver diferença estatística quanto ao tempo de indução para concentrações acima de 40 mg L⁻¹, em estudo com diferentes concentrações de óleo de cravo (18, 20, 30, 40, 50 e 60 mg L⁻¹) para juvenis de matrinxã (*Brycon cephalus*). TORT et al. (2002), por sua vez, verificaram que o tempo de indução foi semelhante (1-3 minutos) para todas as concentrações de óleo de cravo testadas (0,05-0,2 mg L⁻¹) em dourada (*Sparus aurata*) e em truta (*Ocorhynchus mykiss*).

DELBON (2006) em estudo para avaliar a concentração ideal do óleo de cravo em juvenis de tilápia-do-nylo (*Oreochromis niloticus*) não observou diferença estatística para o tempo de recuperação entre as concentrações de 40, 60, 80 e 100 mg L⁻¹.

VIDAL et al. (2006) ao exporem juvenis de Pintado (*Pseudoplatystoma corruscans*) com peso médio de 27,76 ± 7,7 g às concentrações de 25, 50, 75, 100 mg L⁻¹ de eugenol durante 10 minutos, concluíram que os tempos de retorno ao posicionamento normal e da reação à captura não apresentaram diferenças estatísticas (p>0,05) até a concentração de 75 mg L⁻¹, o que só foi observado na concentração de 100 mg L⁻¹.

5.2.1. Óleo de cravo

As concentrações de óleo de cravo testadas (100, 125, 150 e 175 mg L⁻¹) nos curimbatás não diferenciaram significativamente entre si em relação ao tempo de indução e recuperação anestésica. As concentrações testadas induziram à anestesia em tempo médio de 10 segundos (8 e 12 segundos, menor e maior tempo, respectivamente).

Os curimbatás se caracterizaram por apresentar aumento dos batimentos operculares e só respondiam a forte estímulo tátil. Todos os curimbatás expostos às concentrações de óleo de cravo adquiriram o estágio III de anestesia, denominado por ROSS e ROSS (1999) como narcose.

Os curimbatás estiveram sob o efeito da anestesia por 3,8 ± 1,2 minutos em média, sendo sedados, não havendo efeito de anestesia profunda.

Durante a recuperação o animal apresentou retorno parcial do equilíbrio, em seguida natação ainda vacilante, até apresentar total recuperação de equilíbrio e batimentos operculares (Figura 4).

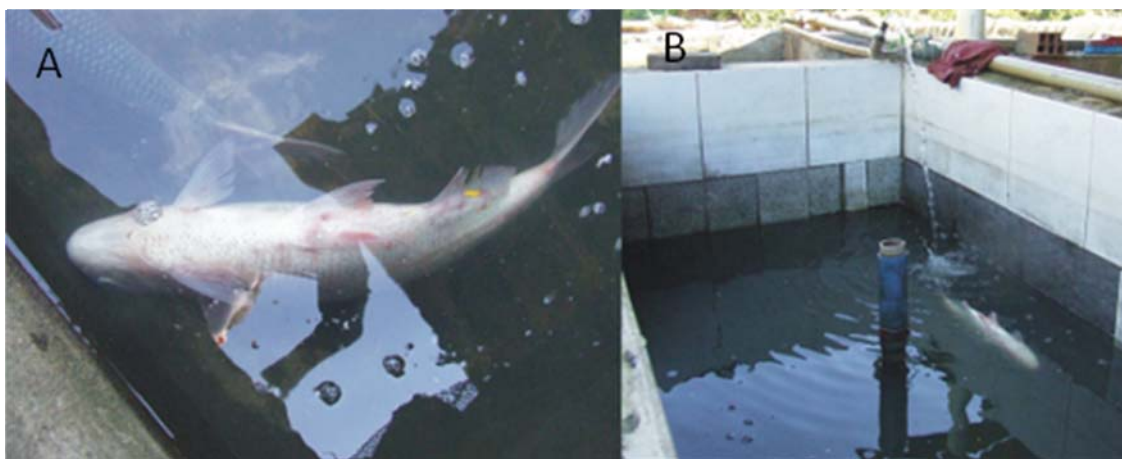


FIGURA 4. (A) Exemplar adulto de curimatá (*Prochilodus lineatus*) em processo de recuperação da anestesia; (B) tanque de recuperação.

O tempo médio de retorno à anestesia dos curimatás expostos às concentrações de óleo de cravo foi de $10,06 \pm 2,3$ minutos.

DELBON (2006) observou tempo de recuperação de $25,4 \pm 4,83$ min para juvenis de tilápia-do-nylo expostos à concentração de 120 mg L^{-1} de óleo de cravo.

O óleo de cravo é caracterizado por apresentar indução anestésica mais rápida (HAJEK et al., 2006), recuperação prolongada (KEENE et al., 1998) e margem de segurança limitada (DELBON, 2006).

Os resultados encontrados neste trabalho confirmam os dados obtidos por KEENE et al. (1998) e SLADKY et al. (2001), que compararam os tempos de indução e de recuperação do óleo de cravo e do MS- 222. Pesquisando a eficácia do óleo de cravo, os mesmo autores determinaram que o tempo de indução ocorreu mais rápido e a recuperação mais prolongada em peixes expostos ao eugenol, comparado com aqueles expostos ao MS-222. Já ANDERSON et al. (1997) observaram que o tempo de indução do óleo de cravo foi mais rápido comparado com o MS-222, entretanto o tempo de recuperação foi similar em ambos anestésicos testados

SLADKY et al. (2001) observaram que pacus submetidos à anestesia com eugenol nas concentrações de 100 mg L^{-1} e 200 mg L^{-1} tiveram tempo de recuperação acima de 10 minutos e alguns foram reanimados com auxílio de oxigenação extra perto da cavidade opercular. Esta pesquisa demonstra que o eugenol possui uma margem de segurança reduzida quando comparado com outros anestésicos.

De acordo com CUNHA e ROSA (2006) é necessário atenção quando são aplicadas altas concentrações de óleo de cravo, devendo observar previamente a espécie

utilizada e o tamanho do peixe. Segundo SLADKY et al. (2001) peixes expostos a altas concentrações de óleo de cravo (100 ou 200 mg L⁻¹) devem ser monitorados, pois podem ocorrer deficiências respiratórias e colapsos medulares, o que pode ocasionar mortalidade.

No entanto, aparentemente os curimatás sofreram estresse mínimo, visto que os animais se encontravam normais a poucos minutos após à anestesia, retornando à alimentação 48h após o retorno ao tange de origem e não ocorrendo mortalidade dos mesmos. O comportamento dos animais revela informações importantes a respeito de sua fisiologia. Durante o tempo de observação e após recuperação dos animais, não foi observada nenhuma reação anormal, comprovando que os animais estavam visivelmente saudáveis e que o óleo de cravo é adequado para utilização durante o manejo de curimatá.

5.2.2. Benzocaína

A resposta dos curimatás expostos às concentrações 100, 125, 150 e 175 mg L⁻¹ de benzocaína foi a mesma em relação ao tempo de indução e recuperação anestésica, não havendo diferenças significativas entre as mesmas.

Os curimatás foram perdendo a reação ao toque logo que submetidos à anestesia com benzocaína. O tempo para indução à perda de reação a estímulos foi semelhante em relação às concentrações testadas.

Os animais expostos às concentrações de benzocaína alcançaram o estágio III de anestesia (narcose), de acordo com ROSS e ROSS (1999). O peixe apresentou os batimentos operculares mais lentos e em seguida o aumento dos mesmos, respondendo apenas a forte estímulo tátil. As concentrações testadas induziram à anestesia em média 10 segundos (8 e 12 segundos, menor e maior tempo, respectivamente). O efeito da sedação em curimatás foi de $4,5 \pm 1,5$ minutos em média.

Na recuperação anestésica o animal se caracterizou por apresentar retorno parcial do equilíbrio seguido de nado ainda vacilante, até apresentar total recuperação de equilíbrio e batimentos operculares. O tempo de retorno à anestesia dos curimatás expostos a benzocaína foi em média de $1,56 \pm 0,8$ minutos.

Não ocorreu a morte dos curimatás expostos aos diferentes tratamentos de benzocaína. A ausência de mortalidade neste estudo em peixes submetidos à anestesia

por este anestésico sugere que o valor crítico de estresse, a partir do qual ocorre morte dos indivíduos, não foi atingido para a espécie.

Os curimatás expostos às soluções de benzocaína retornaram à alimentação 48h após serem submetidos à anestesia.

O comportamento dos animais revela informações importantes a respeito do seu estado fisiológico. Durante o tempo de observação e após recuperação dos peixes, não foi detectada nenhuma reação diferente, corroborando para o fato de que os animais estavam saudáveis e que a benzocaína é adequada para utilização durante o manejo de curimatá. A benzocaína proporcionou segurança para os manipuladores e para os animais durante as práticas de manejo, sem a observação de estresse adicional nos peixes.

5.2.3. Mentol

As concentrações de mentol testadas (100, 125, 150 e 175 mg L⁻¹) nos curimatás não diferenciaram significativamente entre si em relação ao tempo de indução e recuperação anestésica. O resultado foi o mesmo para qualquer concentração de mentol utilizada.

Os curimatás logo que expostos ao mentol foram perdendo a reação ao toque. O tempo para indução à perda de reação a estímulos foi semelhante em relação às concentrações testadas.

Os curimatás expostos às concentrações de mentol adquiriram o estágio III de anestesia, denominado por ROSS e ROSS (1999) como narcose, caracterizado por apresentar aumento dos movimentos operculares; reativos apenas a forte estímulo tátil ou vibração.

As concentrações testadas induziram à anestesia em tempo médio de 10 segundos (8 e 12 segundos, menor e maior tempo, respectivamente). Primeiro o animal apresentou os batimentos operculares mais lentos e em seguida o aumento dos mesmos. O tempo do efeito da anestesia nos curimatás foi de $3,0 \pm 1,4$ minutos em média. Os curimatás nas concentrações testadas foram sedados.

O uso de anestésicos facilitou o manejo do curimatá, a biometria foi feita com segurança para o peixe e para as pessoas que manipulavam os animais. Movimentos bruscos dos peixes grandes colocam em risco também a segurança dos manipuladores,

principalmente quando são manuseados instrumentos pontiagudos ou cortantes, tais como agulhas e tesouras (BARBOSA et al., 2007).

O tempo de recuperação da anestesia dos curimatás expostos ao mentol foi de $3,7 \pm 1,2$ segundos em média.

Não houve mortalidade dos curimatás expostos às concentrações de mentol durante o período do experimento. A ausência de mortalidade em curimatás sugere que o valor crítico de estresse, a partir do qual ocorre morte dos indivíduos, não foi atingido, retornando à alimentação 48h após serem submetidos à anestesia.

O comportamento dos animais revela informações importantes a respeito de sua saúde. Durante o tempo de observação e após recuperação dos peixes, não foi observada nenhuma reação atípica, comprovando que os animais estavam saudáveis e que o mentol é adequado para utilização durante o manejo de curimatá.

O mentol é eficiente e seguro como anestésico para reprodutor de curimatá nas concentrações utilizadas. O curimatá é uma espécie que realiza piracema, portanto a utilização de anestésico seria uma alternativa para melhor reprodução induzida em cativeiro.

5.3. Trairão (*Hoplias lacerdae*)

5.3.1. Óleo de cravo, Benzocaína e Mentol

As concentrações de óleo de cravo, benzocaína e mentol testadas (150, 175, 200 e 250 mg L⁻¹) nos trairões não diferenciaram significativamente entre si e entre os anestésicos em relação ao tempo de indução e recuperação.

VIDAL et al. (2007c) relataram não ocorrer diferenças significativas no tempo de recuperação de juvenis de matrinxã (*Brycon cephalus*) nos tratamentos com 75 a 200 mg L⁻¹ de eugenol, constatando que a recuperação anestésica é pouco ou não influenciada pelas diferentes concentrações.

GONÇALVES et al. (2008) também observaram não ocorrer diferença estatística entre as concentrações de 50 e 100 mg L⁻¹ de eugenol em juvenis de pacu (*Piaractus mesopotamicus*) com $110,5 \pm 21,6$ g.

As concentrações testadas induziram à anestesia em tempo médio de 10 segundos (8 e 12 segundos, referente ao menor e maior tempo, respectivamente). O tempo para indução à perda de reação a estímulos foi semelhante para todas as

concentrações testadas para os três anestésicos. O animal logo que exposto ao anestésico foi perdendo a reação ao toque.

Os trairões quando sob o efeito do anestésico se caracterizavam por movimentos operculares e responder somente a estímulos fortes.

Todos os trairões expostos às concentrações com óleo de cravo, benzocaína e mentol adquiriram o estágio II de anestesia, denominado por ROSS e ROSS (1999) como sedação profunda. O estágio anestésico atingido é suficiente para realização de práticas de manejo rápidas, de duração abaixo de três minutos, tais como, biometrias, injeções e marcações. Os trairões ficaram anestesiados por $6 \pm 1,8$ minutos em média.

Os trairões se debateram durante a indução anestésica, mas a agitação dos animais diminuía a medida que entravam em processo anestésico. Por isso a necessidade de duas pessoas para o procedimento, pois além de adulto, o trairão se caracteriza por ser um animal muito agressivo, colocando em risco as pessoas que realizavam o trabalho.

Os trairões expostos ao óleo de cravo, benzocaína e mentol, em todas as quatro concentrações testadas adquiriram recuperação imediata. A recuperação é considerada imediata quando o peixe logo que colocado em tanguê com água corrente apresenta total recuperação do equilíbrio e capacidade normal de nado, referente ao estágio V de acordo com HIKASA et al. (1986).

Não ocorreu mortalidade dos trairões submetidos aos tratamentos durante o período do experimento. A ausência de mortalidade sugere que o estresse não foi crítico para a espécie, e que o método de aspersão do anestésico nas brânquias não causou danos nas mesmas a ponto de causar a morte dos animais.

Em todos os tratamentos, com os três anestésicos, os peixes retornaram à alimentação no dia seguinte ao serem submetidos à anestesia. O retorno à alimentação demonstra que o animal submetido à anestesia, aparentemente se encontra em bom estado fisiológico.

O comportamento dos animais revela informações importantes. Durante o tempo de observação e após recuperação dos animais, não foi detectada nenhuma reação anormal, comprovando que os animais estavam saudáveis e que os anestésicos são adequados para utilização durante o manejo de trairão. Aparentemente, os animais sofreram estresse mínimo, visto que a natação e a coloração estavam normais imediatamente após o manejo.

Todas as concentrações de benzocaína, óleo de cravo e mentol foram suficientes para sedação de trairões, demonstrando que os anestésicos possuem uma alta segurança, quando utilizados em dose adequada por aspersão direta do nas brânquias de trairões.

O trairão é uma espécie carnívora bem adaptada ao cativeiro. Por ser um animal agressivo, voraz e perigoso, o manejo desta espécie é dificultado, causando risco de ferir as pessoas que o manipula. O uso de anestésico facilitou o manejo desses animais, pois os mesmos foram manuseados sem riscos de ferimento às pessoas que conduziam o trabalho. De acordo com INOUE et al. (2003), as substâncias anestésicas são utilizadas para reduzir a motilidade dos animais, dessa forma, são reduzidos os riscos de acidentes para os peixes e para aqueles que conduzem o trabalho.

5.4. Influência de fatores como peso e temperatura da água de recuperação

As diferenças entre as concentrações anestésicas observadas neste estudo, em relação aos dados de outros pesquisadores, podem ser explicadas devido às diferenças de temperatura, espécie, tamanho do organismo-teste, teor de gordura e método de aplicação anestésica. Assim, a eficácia do anestésico é dependente de inúmeros fatores.

O tamanho parece ser correlacionado positivamente com a eficiência do anestésico. A eficácia geralmente diminui com o tamanho (OLSEN et al., 1995). De acordo com ROUBACH et al. (2002), em peixes menores, a superfície de absorção é maior, assim, em peixes menores a indução à anestesia é mais rápida e a recuperação mais lenta. Espécies aquáticas com diferentes hábitos têm intrinsecamente diferentes taxas metabólicas (ROSS e ROSS, 2008).

Os piavuços, curimbatás e trairões utilizados no atual trabalho apresentavam tamanhos e comprimentos muito semelhantes. Sendo assim, os resultados obtidos podem ser atribuídos às concentrações testadas.

De acordo com OSTRENSKY et al. (2000) e GOMES et al. (2001), o tempo de recuperação do peixe é influenciado pelo tempo de exposição ao fármaco e pela temperatura. Quanto menor a exposição ao anestésico e menor a temperatura da água, mais rápida é a recuperação (MYLONAS et al., 2005). Em temperaturas mais baixas, o tempo de indução anestésica é maior, comparado com maiores temperaturas (ROSS e ROSS, 1999; HOSKONEN e PIRHONEN, 2004). Em temperaturas mais altas a taxa metabólica do peixe é maior e conseqüentemente a indução à anestesia é mais rápida (ROUBACH e GOMES, 2001).

Porém, no presente trabalho a temperatura da água antes e depois da anestesia não apresentou alterações significativas que pudessem interferir nos resultados obtidos durante o período de experimentação.

6. CONCLUSÃO

Recomenda-se o uso de anestesia pelo método de aspersão branquial no manejo de peixes adultos, uma vez que o método mostrou-se viável para os animais, proporcionando segurança necessária aos peixes e manipuladores durante o manejo. Sugere-se a utilização deste método nas concentrações estudadas como tranquilizante e não como anestesia profunda.

Não houve diferença significativa entre os anestésicos e as concentrações testadas com trairão, assim, por questão econômica é indicada a menor concentração, 150 mg L^{-1} , em animais com $1,33 \pm 0,73 \text{ Kg}$ nas condições ambientais utilizadas para os três anestésicos.

No entanto, em termos econômicos, a concentração mais baixa, 100 mg L^{-1} , de óleo de cravo, benzocaína e mentol apresenta melhor custo benefício em curimatás com $1,36 \pm 0,23 \text{ kg}$ nas condições ambientais utilizadas.

Por questão econômica, a concentração de 100 mg L^{-1} de óleo de cravo e benzocaína é a mais indicada para anestesia em reprodutores de piavuçu com $1,34 \pm 0,41 \text{ Kg}$ nas condições ambientais utilizadas.

Nenhuma concentração de mentol estudada foi capaz de levar os piavuçus à anestesia.

Portanto, fica indicada a utilização dos anestésicos (com exceção das concentrações de mentol testadas em piavuçu), uma vez que esse procedimento facilitou o manuseio dos animais e não apresentou efeitos adversos aparentes nos mesmos, assim como aparentemente minimizou os efeitos relacionados ao estresse dos peixes.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAMANTE, W.B. **Estresse de Alevinos do Dourado e Mandi sob Diferentes Densidades e Tempos de Transporte**. 2005. 30f. Dissertação (Mestrado)-Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.
- AGOSTINHO, A.A.; GOMES, L. C.; PELICICE, F.M. **Ecologia Manejo de Recursos Pesqueiros em Reservatórios do Brasil**, Maringá: EDUEM, 2007. 500p.
- ALLAMAN, I.B. **Efeito materno e paterno em curimbatá *Prochilodus lineatus*** (Valenciennes, 1836). 2008. 87f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras.
- ALLEN, J.L. Residues of benzocaine in rainbow trout, largemouth bass, and fish meal. **Progressive Fish-Culturist**, p. 5059-60, 1988.
- ALMAZÁN RUEDA, P.; VAN HELMOND, A.T.M.; VERRETH, J.A.J.; SCHRAMA, J.W. Photoperiod affects growth, behavior and stress variables in *Clarias gariepinus*. **Journal of Fish Biology**, v.67, p. 1029–1039, 2005.
- ALMEIDA, V.L.L.; RESENDE, E.K.; LIMA, M.S. et al. Dieta e atividade alimentar de *Prochilodus lineatus* (Characiformes, Prochilodontidae) no Pantanal do Miranda-Aquidauana. **Revista Unimar**, Mato Grosso do Sul, v.15, p.125-141, 1993.
- ALTUN, T.; BILGIN, R.; DANABAS, D. Effects of Sodium Bicarbonate on Anaesthesia of Common Carp (*Cyprinus carpio* L., 1758) Juveniles. **Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v.9, p. 29-31, 2009.
- ANDERSON, W.G.; MCKINLEY, R.S.; COLAVECCHIA, M. The use of clove oil as an anesthetic for rainbow trout and its effects on swimming performance. **North American Journal of Fisheries Management**, v. 17, p. 301– 307, 1997.
- ANDRADE, D.R.; VIDAL, M.V.J.; SHIMODA, E. Criação do trairão *Hoplias lacerdae*. **Bolétim Técnico UENF**, v. 3, n. 4, p. 23, 1998.
- ANDRIAN, I.F.; DÓRIA, C.R.C.; TORRENTE, G. et al. Espectro alimentar e similaridade na composição da ração de quatro espécies de *Leporinus* (Characiformes, Anostomidae) do rio Paraná (22010'-22050'S/53010'-53040'W), Brasil. **Revista Unimar**, v.16, Suplemento 3, p.97-106, 1994.
- ARENDS, R.J.; MANCERA, J.M.; MUÑOZ, J.L.; WENDELAAR BONGA, S.E. The stress response of the gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) to air exposure and confinement. **Journal of Endocrinology**, v. 163, p. 149– 157, 1999.

- AVMA., 2000 Report of the AVMA panel on euthanasia, **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 218, p. 669–696, 2001.
- BARBIERI, G.; SALLES, F.A.; CESTAROLLI, M.A.; TEIXEIRA-FILHO, A.R. Estratégias reprodutivas do dourado, *Salminus maxillosus* e do curimatã, *Prochilodus lineatus* no Rio Mogi Guaçu, Estado de São Paulo, com ênfase nos parâmetros matemáticos da dinâmica populacional. **Acta Scientiarum Biological Sciences**, Maringá, v. 26, n. 2, p.169-174, 2004.
- BARBOSA, L.G.; MORAES, G. e INOUE, L.A.K.A. Respostas metabólicas do matrinxã submetido a banhos anestésicos de eugenol. **Acta Scientiarum Biological Sciences**, Maringá, v. 29, n. 3, p. 255-260, 2007.
- BARTON, B.A.; IWAMA, G.K. Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of corticosteroids. **Annual Review of Fish Diseases**, New York, v.1, n.2, p. 3-26, 1991.
- BARTON, B.A. Stress in finfish: past, present and future—a historical perspective. In: Iwama, G.K. et al. (Eds.), **Fish Stress and Health in Aquaculture**, Cambridge: Univ. Press, (Society for Experimental Biology Seminar Series 62), p. 1 – 33, 1997.
- BARTON, B.A. Stress. In: **Stickney**, R.R. (Ed.). Encyclopedia of Aquaculture. John Wiley and Sons, 2000, p. 892–898.
- BARTON, B., BOLLIG, H., HAUSKINS, B.L., JANSEN, C.R.. Juvenile pallid (*Scaphirhynchus albus*) and hybrid pallid X shovelnose (*S. Albus* X *platyrhynchus*) sturgeons exhibit low physiological responses to acute handling and severe confinement. **Comparative Biochemistry and Physiology**, n. 26 A, p. 125–134, 2000.
- BERNSTEIN, P.S.; DIGRE, K.B.; CREEL, D.J. Retinal toxicity associated with occupational exposure to the fish anesthetic MS-222. **American Journal of Ophthalmology**, v. 124, p. 843-844, 1997.
- BEZERRA E SILVA, J.W. **Desova e seleção de peixes de água quentes, temperadas e frias**. Fortaleza: UFC, 1997. 89p.
- BOOTH, N.H. Drug and chemical residues in the edible tissues of animals. In: BOOTH, N. H.; McDONALD, L. E. (Eds.). **Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, 6th ed. Iowa State Univ. Press, Iowa, p. 1149-1159, 1988.
- BORN, G.G.; BERTOLLO, L.A.C. A new sympatric region for distinct karyotypic forms of *Hoplias malabaricus* (Pisces, Erythrinidae). **Brazilian Journal Biology**, v. 66, n. 1B, p. 205-210, 2006.

- BOSCOLO, W.R.; SIGNOR, A.; FEIDEN, A.; SIGNOR, A.A.; SCHAEFER, L.A.; REIDEL, A. Farinha de Resíduos da Filetagem de Tilápia em Rações para Alevinos de Piauçu (*Leporinus macrocephalus*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n. 6, p.1819-1827, 2005.
- BOWSER, P.R. Anesthetic options for fish. In: Recent Advances in Veterinary and Analgesia: Companion animals, GLEED, R. D.; LUDDERS, J. W (Eds.). **International Veterinary Information Service**, Ithaca, Nova York, EUA, 2001.
- BRITSKI, H.S. Peixes de água doce do Estado de São Paulo - Sistemática. In: Poluição e piscicultura. São Paulo: Faculdade de Saúde Pública e Instituto de Pesca, CPRN – **Secretaria de Agricultura**, 1972. p.79-108.
- BRITSKI, H.A.; SATO, Y.; ROSA, A.B.S. **Manual de identificação de peixes da Região de Três Marias**. 3.ed. Brasília: Câmara dos Deputados, Coordenação de Publicações/CODEVASF, Divisão de Piscicultura e Pesca, 1988. 115p.
- BRITSKI, H.A. **Peixes do Pantanal. Manual de identificação**. Brasília: Embrapa – SPI, 1999. 184p.
- BROWN, L.A. Anesthesia in fish. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, Philadelphia, v.18, n. 2, p.317-329, 1988.
- BROWN, L.A. Anesthesia and restraint. In: **Fish Medicine** (STOSKOPF, M. K. ed.), Saunders, Philadelphia, 1993, p. 79-90.
- BRUECKER, P.; GRAHAM, M. The effect of the anesthetic ketamine hydrochloride on oxygen consumption rates and behaviour in the fish *Heros citrinellum* (Gunther 1864). **Comparative Biochemistry and Physiology**, 104C, p. 57-59, 1993.
- 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, 333-349.
- CAMPBELL, P.M.; POTTINGER, T.G.; SUMPTER, J.P. Preliminary evidence that chronic confinement stress reduces the quality of gametes produced by brown and rainbow trout. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 120, p. 151-169, 1994.
- CARMICHAEL, G.J.; TOMASSO, J.R. Survey of fish transportation equipment and techniques. **The Progressive Fish-Culturist**, v. 80, p.155-159, 1988.

- CARNEIRO, P.C.F.; URBINATI, E.C.; MARTINS, M.L. Estresse devido ao transporte e à ação da benzocaina 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). 2001. 139f. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.
- CARNEIRO, P.C.F.; URBINATI, E.C. Salt as a stress response mitigator of matrinxã, *Brycon cephalus* (Günther), during transport. **Aquaculture Research**, v. 32, p. 298-307, 2001.
- CASTAGNOLLI, N. **Piscicultura de água doce**. Jaboticabal: Fundação Universidade Estadual Paulista, 1992. 189p.
- CECH JÚNIOR, J.J.; BARTHOLOW, S.D.; YOUNG, P.S. et al. Striped bass exercise and handling stress in freshwater: physiological responses to recovery environment. **Transactions of the American Fisheries Society**, Bethesda, v. 125, n. 1, p. 308-320, 1996.
- CERQUEIRA, C.C.C.; FERNANDES, M.N. Gill tissue recovery after copper exposure and blood parameter responses in the tropical fish *Prochilodus scrofa*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, San Diego, v. 52, n. 2, p. 83-91, 2002.
- CHANDROO, K.P., DUNCAN, I.J.H., MOCCIA, R.D. Can fish suffer?: perspectives on sentience, pain, fear and stress. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 86, p. 225 - 250, 2004.
- CHANSEAU, M.S., GALIAY, E.B., OULES, G. The use of clove oil as an anesthetic for Atlantic salmon smolts (*Salmo salar* L.) and comparison of its effects with those of 2- phenoxyethanol. **Bull. Fr. Peche Piscic.**, v. 365, p. 579-589, 2002.
- CHIBA, A.; HAMAGUCHI, M.; KOSAKA, M.; ASAI, T.; TOKUNO, T.; CHICHIBU, S.I. In vivo ³¹P-NMR analysis of the electric anaesthetised loach, *Cobitis biswae*. **Comparative Biochemistry and Physiology**, n. 97A, p. 385-389, 1990.
- CHO, G.K.; HEATH, D.D. Comparison of tricaine methanesulphonate (MS-222) and clove oil anaesthesia effects on physiology of juvenile chinook salmon *Oncorhynchus tshawytscha* (Watbaum). **Aquaculture Research**, v. 31, p. 537-546, 2000.
- CLARK, A. Gross examination in fish health work. In: Fin Fish Diseases (ed. By D. J. Bryden), **Post Graduate Foundation in Veterinary Science**, Sydney, 1990, p. 9-23.

COMPANHIA ENERGÉTICA DE MINAS GERAIS, FUNDAÇÃO CENTRO TECNOLÓGICO DE MINAS GERAIS. **Guia ilustrado de peixes da bacia do rio Grande**. Belo Horizonte: CEMIG/CETEC, 2000. 144p.

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

CRUZ, V.L.B. **Criopreservação de sêmen de curimbatá** (*Prochilodus lineatus = scrofa*) (Characiformes, Prochilodontidae). 2001. 59f. Dissertação (Mestrado em Zoologia) - Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais, Belo Horizonte.

CRUZ, C.; FUJIMOTO, R.Y.; LUZ, R.K.; PORTELLA, M.C.; MARTINS, M.L. Toxicidade aguda e histopatologia do fígado de larvas de trairão (*Hoplias lacerdae*) expostas à solução aquosa de formaldeído a 10%. *Pesticidas: r. ecotoxicol. e meio ambiente*. **Curitiba**, v. 15, p. 21-28, 2005.

CUNHA M.A.; COPATTI, C.E.; GARCIA L.O.; FONSECA, M.B.; FERREIRA, F.W.; MALDANER, G.; MOREL, A.F.; LORO, V.L.; BALDISSEROTTO, B. Níveis de cortisol em jundiás (*Rhamdia Quelen*) expostos ao óleo de cravo (Eugenol) e extrato de *Condalia buxifolia*. In: QUACIENCIA, Bento Gonçalves, **Anais...**, Sociedade Brasileira de Aqüicultura e Biologia Aquática, 2006, CD-ROM, 2006.

CUNHA, F.E.A.; ROSA, I.L. Anesthetic effects of clove oil on seven species of tropical reef teleosts. **Journal of Fish Biology**, London, v. 69, p. 1504-1512, 2006.

CUNHA, M.A. **Anestesia em jundiás** (*Rhamdia quelen*) **expostos a substâncias isoladas de plantas**. 2007. 65f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Santa Maria.

CURTIS, E.K. In pursuit of palliation: oil of cloves in the art of dentistry. **Bull. Dental History**, v. 38, p. 9–14, 1990.

DAVIDSON, G.W.; DAVIE, P.S.; YOUNG, G.; FOWLER, R.T. Physiological responses of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* to crowding and anesthesia with Aquisk. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 31, n. 1, p. 105–114, 2000.

DELBON, M.C. **Ação da Benzocaína e do Óleo de Cravo sobre parâmetros fisiológicos de tilápia**, *Oreochromis niloticus*. 2006. 91f. Dissertação (Mestrado em aquicultura) - Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

- DERIGGI, G.F.; INOUE, L.A.K.A.; MORAES, G. Stress responses to handling in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* Linnaeus): assessment of eugenol as an alternative anesthetic. **Acta Scientiarum: Biological Sciences**, v. 28, p. 269-274, 2006.
- DUNLOP, R.; LAMING, P. Mechanoreceptive and nociceptive responses in the central nervous system of goldfish (*Carassius auratus*) and trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Journal of Pain**, v. 6, p. 561–568, 2005.
- DURVILLE, P.; COLLET, A. Clove oil used as an anesthetic with juvenile tropical marine fish. **SPC Live Reef Fish Information Bulletin**, Saint-Gilles Les Bains, n. 9, p. 17-19, 2001.
- 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.
- FERREIRA, E.J.G. et al. **Peixes comerciais do médio Amazonas: região de Santarém, Pará**. Brasília, DF: IBAMA, 1998. 211p.
- FISCHER, I.U.; VON UNRUH, G.E.; DENGLER, H.J. The metabolism of eugenol in man. **Xenobiotica**, v. 20, p. 209-222, 1990.
- FOOD AND DRUG ADMINISTRATION (FDA). Status of clove oil and eugenol for anesthesia of fish. **Guidance for Industry**, 2002. v. 150, 4p.
- FUGI, R.; HAHN, N.S.; AGOSTINHO, A.A. Feeding of five species of bottom feeding fish on the Paraná River (PR, MS, Brasil). **Environmental Biology of Fishes**, v. 46, n. 3. p. 297-307, 1996.
- FURUYA, W.M. Espécies nativas. In: MOREIRA, H.L.M. et al. **Fundamentos da moderna aquicultura**. Canoas: ULBRA, 2001. Cap.10, p. 83-90.
- GALDIOLI, E.M.; HAYASHI, C.; FARIA, A.C.EA.; SOARES, C.M. Substituição parcial e total da proteína do farelo de soja pela proteína dos farelos de canola e algodão em dietas para alevinos de piavuçu, *Leporinus macrocephalus* (Garavello & Britski, 1988). **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 23, n. 4, p. 841-847, 2001.
- GALDIOLI, E.M.; HAYASHI, C.; SOARES et al. Substituição da Proteína do Farelo de Soja pela Proteína do Farelo de Canola em Rações para Alevinos de Curimatá (*Prochilodus lineatus* V.). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 31, n. 2, p. 552-559, 2002.
- GARAVELO, J.C.; BRITSKI, H.A. *Leporinus macrocephalus* sp. da bacia do rio Paraguai **Naturalia**, São Paulo, v. 13, p. 67-74, 1988.

- GILBERT, P.W.; WOOD, F.G. **Method of anaesthetising sharks and rays safely and rapidly**, Science, 1957. p. 126 - 212.
- 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.
- GIMBO, R.Y.; SAITA, M.V.; GONÇALVES, A.F.N.; TAKAHASHI, L.S. Diferentes concentrações de benzocaína na indução anestésica do lambari-do-rabo-amarelo (*Astyanax altiparanae*). **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 9, n. 2, p. 350-357, 2008.
- GOMES, L.C.; CHIPPARI-GOMES, A.R.; LOPES, N.P.; ROUBACH, R.; ARAUJOLIMA, C.A.R. Efficacy of benzocaine as an anesthetic in juvenile tambaqui *Colossoma macropomum*. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 32, p. 426-431, 2001.
- GOMES, L.C.; ARAÚJO-LIMA, C.A.R.M.; ROUBACH, R.; CHIPARRI-GOMES, A.R.; LOPES, N.P.; URBINATI, E.C. Effect of fish density during transportation on stress and mortality of juvenile tambaqui *Colossoma macropomum*. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 34, n. 1, p. 76-84, 2003a.
- GOMES, L.C.; ARAÚJO-LIMA, C.A.R.M.; ROUBACH, R.; URBINATI, E.C. Avaliação dos efeitos da adição de sal e da densidade no transporte de tambaqui. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 38, p. 283-290, 2003b.
- GONÇALVES, G.S.; FURUYA, W.M. Digestibilidade aparente de alimentos pelo piavuçu, *Leporinus macrocephalus*. **Acta Scientiarum Animal Sciences**. Maringá, v. 26, n. 2, p. 165-169, 2004.
- GONÇALVES, A.F.N.; SANTOS, E.C.C.; KOCHENBORGER, J.B.F.; TAKAHASHI, L.S. Mentol e eugenol como substitutos da benzocaína na indução anestésica de juvenis de pacu. **Maringá**, v. 30, n. 3, p. 339-344, 2008.
- GONTIJO, V.P.M. Produção consorciada de trairão e tilápia. **Informe Agropecuário**, v. 10, n. 110, p. 26-29, 1984.
- GRIFFITHS, S.P. The use of clove oil as an anaesthetic and method for sampling intertidal rockpool fishes. **Journal of Fish Biology**, v. 57, p. 1453–1464, 2000.

- GRUSH, J.; NOAKES, D.L.G.; MOCCIA, R.D. The efficacy of clove oil as an anesthetic for the Zebrafish, *Danio rerio* (Hamilton). **New Rochele**, v. 1, n.1, 2004.
- GUÉNETTE, S.A.; UHLAND, F.C.; HÉLIE, P.; BEAUDRY, F.; VACHON, P. Pharmacokinetics of eugenol in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) **Aquaculture**, v. 266, p. 262 – 265, 2007a.
- GUÉNETTE, S.A.; HÉLIE, P.; BEAUDRY, F.; VACHON, P. Eugenol for anaesthesia in African clawed frogs *Xenopus leavis*. **Veterinary Anaesthesia and Analgesia** (In press), 2007b.
- GUIDOTTI, T. Critique of available studies of the toxicology of kretek smoke and its constituents by routes of entry involving the respiratory tract. **Ar-chives of Toxicology**, v. 63, p. 7–12, 1989.
- GUNN, E. Floundering in the foibles of fish anaesthesia, publicação on line in: <http://www.animal.uq.edu/lecture/anim3002/fish-anaesthesia.pdf>, 2000.
- GURNEY, R. Fish Anaesthesia. In: **Fish Health Workshop**. Proceedings 265, Postgraduate Committee in Veterinary Science, University of Sydney, 1996. p. 135-158.
- 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.
- HASAN, M.; BART, A.N. Improved survival of rohu, *Labeo rohita* (Hamilton-Buchanan) and silver carp, *Hypophthalmichthys molitrix* (Valenciennes) fingerlings using low-dose quinaldine and benzocaine during transport. **Aquaculture Research**, v. 38, p. 50-58, 2007.
- HASLER, A.D.; MEYER, P.K. Respiratory responses of normal and castrated goldfish to teleost and mammalian hormones. **Journal of Experimental Zoology**, v. 91, p.391-404, 1942.
- HEMANI; TANGENDJAJA, B. Analisis mutu minyak nilam dan minyak cengkeh secarakromatograti. **Media Penelitian Sukamandi**, (in Indonesian), p. 57-65, 1988.
- HIKASA, T.; TAKASE, K.; OGASAWARA, T.; OGASAWARA, S. Anesthesia and recovery with tricaine methanesulfonate, eugenol and thiopental sodium in the carp, *Cyprinus carpio*. **Japanese Journal of Veterinary Research**, v. 48, p. 341–351, 1986.
- HILL, J.V.; DAVISON, W.; FORSTER, M.E. The effects of fish anaesthetics (MS-222, metomidate and AQUI-S) on heart ventricles, the cardiac vagus and branchial vessels from Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). **Fish Physiology and Biochemistry**, v. 27, p. 167-177, 2004.

- HONCZARYK, A.; INOUE, L.A.K.A. **Anestesia do pirarucu por aspersão direta nas brânquias do eugenol em solução aquosa**. 2008. Ciência Rural, Santa Maria. Online. Acesso em 15 de julho de 2009.
- HORSBERG, T.E.; SAMUELSEN, O.B. Behandling. In: **Poppe, T.** (Ed.), Fiskehelse og fiskesykdommer. Universitetsforlaget, Oslo, Norway, v. 1999, p. 324–338.
- HOSKONEN, P.; PIRHONEN, J. Temperature effects on anaesthesia with clove oil in six temperature-zone fishes. **Journal of Fish Biology**, v. 64, p. 1136-1142, 2004.
- HOWE, G.E.; BILLS, T.D.; MARKING, L.L. Removal of benzocaine from water by filtration with activated carbon. **Progressive Fish-Culturist**, v. 52, p. 32-35, 1990.
- INOUE, L.; SANTOS-NETO, C.; MORAES, G. Clove oil as anaesthetic for juveniles of matrinxã *Brycon cephalus* (Gunther, 1869). **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 33, n. 5, p. 943-947, 2003.
- INOUE, L.A.K.A.; HACKBARTH, A.; MORAES, G. Avaliação dos anestésicos 2-Phenoxyethanol e benzocaína no manejo do matrinxã *Brycon cephalus* (GÜNTHER, 1869). Biodiversidade Pampeana, PUCRS, **Uruguaiana**, v. 2, p. 10-15, 2004.
- INOUE, L.A.K.A.; AFONSO, L.O.B.; IWAMA, G.K. Efeito do óleo de cravo na resposta de estresse do matrinxã (*Brycon cephalus*) submetido ao transporte. **Acta Amazônica**, Manaus, v. 35, n. 2, p. 289-295, 2005.
- ISAACS, G. **Permanent local anaesthesia and anhidrosis after clove oil spillage**. Lancet i, 1983, 882p.
- IVERSEN, M.; FINSTAD, B.; NILSSEN, K. Recovery from loading and transport stress in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) smolts. **Aquaculture**, v. 168, p. 387–394, 1998.
- IVERSEN, M.; FINSTAD, B.; MCKINLEY, R.S.; ELIASSEN, R.A. The efficacy of metomidate, clove oil, AQUI-S™ and Benzoak® as anaesthetics in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) smolts, and their potencial stress-reducing capacity. **Aquaculture**, v. 221, p. 549-566, 2003.
- IWAMA, G.; ACKERMAN, A. Anaesthetics. In: HOCHACHKA, P.; MOMMSEN. **Analytical techniques in biochemistry and molecular biology of fishes**. Amsterdam: Elsevier Science, v. 3, cap. 1, p. 1-5, 1994.
- JEPSEN, D.B.; WINEMILLER, K.O.; TAPHORN, D.C. Temporal patterns of resource partitioning among *Cichla species* in a Venezuelan blackwater river. **Journal of Fish Biology**, London, v. 51, n. 6, p. 1085-1108, 1997.

- JOBLING, M.; COVÈS, D.; DAMSGARD, B.; KRISTIENSEN, J. S.; KOSKELA, J.; PETURSDOTTIR, T. E.; KADRI, S.; GUDMUNDSON, O. Techniques for measuring feed intake. In: HOULIHAN, D.; BOUJARD, T.; JOBLING, M. (Eds.), **Food Intake in Fish**. Blackwell, Oxford, p. 49-87, 2001.
- KANEKO, K. On the removal of larger freshwater fishes. **Mar. Parks Aquária**, v. 11, p. 39–45, 1982.
- KANG, E.J.; KIM, E.M.; KIM, Y.J.; LIM, S.G.; SIM, D.S.; KIM, Y.H.; PARK, I.S. 2005. Effect of lidocaine hydrochloride and clove oil as an anaesthetic on Korean rose bitterling, *Rhodeus uyekii* and oily bitterling, *Acheilognathus koreensis*. **Journal Aquaculture**, (in Korean with an English abstract), v. 18, p. 272–279, 2005.
- KEENE, J.L.; NOAKES, D.L.G.; MOCCIA, R.D.; SOTO, C.G. The efficacy of clove oil as an anaesthetic for rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). **Aquaculture Research**, v. 29, p. 89-101, 1998.
- KILDEA, M.A.; ALLAN, G.L.; KEARNEY, R.E. Accumulation and clearance of the anesthetics clove oil and AQUI-S™ from the edible tissue of silver perch (*Bidyanus bidyanus*). **Aquaculture**, Amsterdam, v. 232, p. 265 – 277, 2004.
- KING, W.V.; HOOPER, B.; HILLSGROVE, S.; BENTON, C.; BERLINSKY, D.L. The use of clove oil, metomidate, tricaine methanesulphonate and 2-phenoxyethanol for inducing anaesthesia and their effect on the cortisol stress response in black sea bass (*Centropristis striata* L.). **Aquaculture Research**, v. 36, p. 1442–1449, 2005.
- LEFRANÇOIS, C.; CLAIREAUXA, G.; MERCIERA, C. et al. Effect of density on the routine metabolic expenditure of farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, v. 195, p. 269-277, 2001.
- LEWIS, D.J.; WOOD, G.D.; GREGORY, R. **Trading the Silver Seed**. University Press, Dhaka-1000, Bangladesh, 1996, 199p.
- LI, L.F.; LIU, G.; WANG, J. Etiology and prognosis of hand eczema in a dermatology clinic in China: a follow-up study. **Contact Dermatitis**, Oxon, v. 58, p. 88-92, 2008.
- LIU, E.H.; GIBSON, D.M. Visualization of peroxidase isozymes with eugenol, a noncarcinogenic substrate. **Analytical Biochemistry**, v. 79, p. 597-601, 1977.
- LORENZO, D.; PAZ, D.; DELLACASSA, E.; DAVIES, P.; VILA, R.; CAÑIGUERAL, S. Essential oils of *Mentha pulegium* and *Mentha rotundifolia* from Uruguay. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 45, n. 4, p. 519-524, 2002.

- LOSEY, G.S.; HUGIE, D.M. Prior anaesthesia impairs a chemically mediated fright response in a gobiid fish. **Journal of Chemical Ecology**, Amsterdam, v. 20, n. 8, p. 1877-1883, 1994.
- LUZ, R.K.; PORTELLA, M.C. Larvicultura de trairão (*Hoplias Lacerdae*) em água doce e água salinizada. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 31, n. 2, p. 829-834, 2002a (suplemento).
- LUZ, R.K.; PORTELLA, M.C. Utilização de alimento vivo e alimento inerte na larvicultura de trairão *Hoplias lacerdae*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ZOOLOGIA, 24. 2002b, Itajaí. **Resumos...** Itajaí: 2002b. CD-ROM. PISCES. 12372.
- LUZ, R.K. **Aspectos da Larvicultura do trairão *Hoplias lacerdae*: Manejo alimentar, Densidade de Estocagem e Teste de exposição ao Ar**. 2004. 120f. Tese (Doutorado em Aquicultura) – Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.
- MACHADO, M.R.F. **Características morfométricas e corporais de curimatá *Prochilodus lineatus* (Characiforme: Prochilodontidae) dos estoques migradores e residentes do rio Mogi-Guaçu**. 2007. 70f. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Centro de Aquicultura, Jaboticabal.
- MAIA, E.L.; OLIVEIRA, C.C.S.; SANTIAGO, A.P.; CUNHA, F.E.A.; HOLANDA, F. C.A.F.; SOUSA, J.A. Composição química e classes de lipídios em peixe de água doce Curimatã comum, *Prochilodus cearensis*. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 19, n. 3, p. 433-437, 1999.
- MARKING, L.L.; MEYER, F.P. Are better anesthetics needed in fisheries. **Fisheries**, v. 10, n. 6, p. 2-5, 1985.
- MARŠIĆ-LUCIĆ, J.; MLADINEO, I.; TUDOR, M. Comparative effectiveness of 2-phenoxyethanol and propiscin as anesthetics for juvenile sea bass *Dicentrarchus labrax* L. **Aquaculture International**, Dordrecht, v. 13, p. 543-553, 2005.
- MASSEE, K.C.; RUST, M.B.; HARDY, R.W.; STICKNY, R.R. The effectiveness of triacine, quinaldine sulphate and metomidate as anaesthetics for larval fish. **Aquaculture**, v. 134, p. 351-359, 1995.
- MATOS, F.J.A. **Plantas medicinais: guia de seleção e emprego de plantas usadas em fitoterapia no Nordeste do Brasil**. 2. ed. Fortaleza: UFC, 2000.
- MAULE, A.G.; TRIPP, R.A.; KAATTARI, S.L.; SCHRECK, C.B. Stress alters immune function and disease resistance in Chinook salmon, (*Oncorhynchus tshawytscha*). **The Journal of Endocrinology**, Bristol, v. 120, p. 135-142, 1989.

- MAURA, A.; PINO, A.; RICCI, R. Negative evidence in vivo of DNA-damaging, mutagenic and chromosomal effects of eugenol. **Mutation Research**, v. 227, p. 125-129, 1989.
- MAZZAFERA, P. Efeito alelopático do extrato alcoólico do cravo-da-índia e eugenol. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 26, n. 2, p. 231-238, 2003.
- MAZIK, P.M.; SIMCO, B.A.; PARKER, N.C. Influence of water hardness and salts on survival and physiological characteristics of stripped bass during transport. **Transactions of the American Fisheries Society**, v. 120, p. 121-126, 1991.
- McCONNEL, R.H.L. **Estudos ecológicos de comunidades de peixes tropicais**. São Paulo: USP, 1999. 535p.
- McCORMICK, S.D.; SHIRIMPTON, J.M.; CAREY, J.B.; O'DEA, M.F.; SLOAN, K.E.; MORIYAMA, S.; BJORNSSON, B.T. Repeated acute stress reduces growth rate of Atlantic salmon parr and alters plasma levels of growth hormone, insulin-like growth factor and cortisol. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 168, p. 221-235, 1998.
- McDONALD, D.G.; GOLDSTEIN, M.D.; MITTON, C. Responses of hatchery-reared brook trout, lake trout, and splake to transport stress. **Transactions of the American Fisheries Society**, v. 122, p. 1127– 1138, 1993.
- McGEE, M.; CICHRA, C. **Fish handling and transport**. Disponível em: <<http://edis.ifas.ufl.edu/pdf/FA/FA01900.PDF>>. Acesso em: 30 ago. 2009.
- MEINERTZ, J.R.; GRESETH, S.L.; SCHREIER, T.M.; BERNARDY, J.A.; GINGERICH, W.H. Isoeugenol concentrations in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) skin-on fillet tissue after exposure to AQUI-STTM at different temperatures, durations, and concentrations. **Aquaculture**, v. 254, p. 347–354, 2006.
- MILIORINI, A.B. **Ativadores e concentrações de metanol e dimetilsulfóxido na qualidade do sêmen criopreservado de curimba (*Prochilodus lineatus*)**. 2006. 99f. (Dissertação de mestrado) – Universidade Federal de Lavras.
- MOLEYAR, V.; NARASIMHAM, P. Antibacterial activity of essential oil components. **International Journal of Food Microbiology**, v. 16, p. 337–342, 1992.
- MOLINERO, A.; GONZALES, J. Comparative effects of MS-222 and 2-phenoxyethanol on gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) during confinement. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 111, n. 3A, p. 405-414, 1995.

- MUNDAY, P.L.; WILSON, S.K. Comparative efficacy of clove oil and other chemicals in anaesthetization of *Pomacentrus amboinesis*, a coral reef fish. **Journal of Fish Biology**, Oxford, v. 51, p. 931-938, 1997.
- MURGAS, L.D.S.; VIVEIROS, A.T.M.; MARIA, A.N.; FREITAS, R.T.F.; FREATO, T.A.; SANTOS, V.B. **Reprodução/espécies próprias para a piscicultura**. Lavras: UFLA/FAEPE. Lavras, 2003. p.28. (Curso Qualificação Profissional – a distância).
- MYLONAS, C.C.; CARDINALETTI, G.; SIGELAKI, I.; POLZONETTI-MAGNI, A. Comparative efficacy of clove oil and 2- phenoxyethanol as anesthetics in the aquaculture of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and gilthead sea bream (*Sparus aurata*) at different temperatures. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 246, p. 467–481, 2005.
- NAGABABU, E.; LAKSHMAIAH, N.; INHIBITORY. Effect of eugenol on nonenzymatic lipid peroxidation in rat liver mitochondria. **Biochem Pharmacol**, v. 43 p. 2393–2400, 1992.
- NAKATANI, K. et al. **Ovos e larvas de peixes de água doce: desenvolvimento e manual de identificação**. Maringá: EDUEM, 2001. p.341-344.
- NOGUEIRA, G.C.C.B. et al. Desempenho produtivo de juvenis de trairão (*Hoplias lacerdae*) alimentados com rações comerciais. **Revista Ceres**, v. 52, n. 302, p. 401-497, 2005.
- NOMURA, M. **The stress of moving out: physiological and behavioural effects of commercial transport on atlantic salmon (*Salmo salar*) smolts**. 96p. The University Of British Columbia, 2008.
- 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.
- OLFERT, E.D.; CROSS, B.M.; MCWILLIAM, A.A. Anesthetic and sedative drug dosage- fishes. In: _____. **Guide to the care and use of experimental animals**. 2.ed. Ottawa: Canadian Council on Animal Care, 1993. p.192.
- OLSEN, Y.A.; EINARSDOTTIR, I.E.; NILSSEN, K.J. Metomidate anesthesia in Atlantic salmon, *Salmo salar*, prevents plasma cortisol increase during stress. **Aquaculture**, v. 134, p. 155-168, 1995.
- OLSVIK, P.A.; LIE, K.K.; HEVRØY, E.M. Do anesthetics and sampling strategies affect transcription analysis of fish tissues?. **BMC Molecular Biology**, 2007. v. 8, 48p.

- ONO, A.E.; KUBITZA, F. Cultivo de peixes em tanques-rede. 3. ed, Jundiaí: **Água & Imagem**, 2003. 126p.
- ORFÃO, L.H. **Resfriamento e criopreservação de sêmen de curimba *Prochilodus lineatus*** (Valenciennes, 1836). 2006. 86p. Dissertação (Mestrado em Produção Animal) – Universidade Federal de Lavras.
- ORTUÑO, J.; ESTEBAN, M.A.; MESEGUER J. Effects of anaesthetics on the innate immune response of gilthead seabream (*Sparus aurata* L.). **Fish and Shellfish Immunology**, v. 12, p. 49-59, 2002.
- OYAKAWA, O.T. Erythrinidae (Trahiras). In: REIS, R.E.; KULLANDER, S.O. and C.J. FERRARIS, C.J. (eds.) **Checklist of the Freshwater Fishes of South and Central America**. Porto Alegre: EDIPUCRS, Brasil, 2003, p. 238-240.
- PAIVA, M.P. **Crescimento, alimentação e reprodução de traíra, *Hoplias malabaricus*** (Bloch), **no nordeste brasileiro**. Fortaleza: Imprensa Universitária da UFC, 1974. 32 p.
- PARK, I.S.; JO, J.H.; LEE, S.J.; KIM, Y.A.; PARK, K.E.; HUR, J.W.; YOO, J.S.; SONG, Y.C. Anaesthetic effect of lidocaine hydrochloride-sodium bicarbonate and MS-222 on the greenling (*Hexagrammos otakii*). **Journal of the Korean Fisheries Society**, v. 36, p. 449-453, 2003.
- PARK, I.S.; HUR, J.W.; SONGY, C.; IM, J.H.; JOHNSON, S.C. Anesthetic effect of lidocaine hydrochloride-sodium bicarbonate on the winter flounder, *Pleuronectes americanus*. **Ocean and Polar Research**, v. 26, p. 475-480, 2004.
- PARK, M.O.; HUR, W.J.; IM, S.Y.; SEOL, D.Y.; JINHWAN, L.; PARK, I.S. Anaesthetic efficacy and physiological responses to clove oil anaesthetized kelp grouper *Epinephelus bruneus*. **Aquaculture Research**, v. 39, p. 877-884, 2008.
- PICKERING, A.D. Rainbow trout husbandry: Management of the stress response. **Aquaculture**, v. 100, p. 125-139, 1992.
- PIRHONEN, J.; SCHRECK, C.B. Effects of anaesthesia with MS-222, clove oil and CO₂ on feed intake and plasma cortisol in steelhead trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, v. 224, p. 1-8, 2002.
- PIRHONEN, J., SCHRECK, C.B. Effects of anesthesia with MS-222, clove oil and CO₂ on feed intake and plasma cortisol in steelhead trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, v. 220, p. 507–514, 2003.

PNDPA – **Programa Nacional de Desenvolvimento de Pesca Amadora**. Piau. Capturado em 30 ago. 2009. On line. Disponível na internet: <http://www.setorpesqueiro.com.br>.

POTTINGER, T.G.; CARRICK, T.R. Modifications of the plasma cortisol response to stress in rainbow trout by selective breeding. **General and Comparative Endocrinology**, v. 116, p. 122-132, 1999.

PULLA REDDY, A.C.; LOKESH, B.R. Studies on spice principles as antioxidants in the inhibition of lipid peroxidation of rat liver microsomes. **Molecular and Cellular Biochemistry**, v. 111, p. 117–124, 1992.

RAJAKUMAR, D.V.; RAO, M.N.A. Dehydrozingerone and isoeugenol as inhibitors of lipid peroxidation and as free radical scavengers. **Biochemical Pharmacology**, v. 46, p. 2067–2072, 1993.

RANTIN, F.T. et al. Respiratory responses to hypoxia in relation to mode of life of two erythrinid species (*Hoplias malabaricus* and *Hoplias lacerdae*). **Journal of Fish Biology**, v. 41, p. 805-812, 1992.

REIS, R.E.; KULLANDER, S.O.; FERRARIS Jr, C.J. **Check list of the freshwater fishes of South and Central America**. Porto Alegre: EDIPUCRS, 2003. 742 p.

REYNALTE-TATAJE, D.A.; ESQUIVEL, B.M.; ESQUIVEL, J.R.; ZANIBONI FILHO, E. Reproducción inducida del piaçu, *Leporinus macrocephalus* Ravello y Britski, 1988 (Characiformes, Anostomidae). **Boletim do Instituto da Pesca**, São Paulo, v. 28, n. 1, p.11-18, 2002.

RIBAS, L.; FLOS, R.; REIG, L.; Mac KENZIE, S.; BARTON, B.A.; TORT, L. Comparison of methods for anaesthetizing Senegal sole (*Solea senegalensis*) before slaughter: stress responses and final product quality. **Aquaculture**, v. 269, p. 250- 258, 2007.

RIBEIRO, R.P.; HAYASHI, C.; MARTINS, E.N.; MARTIN-NIETO1, L.; SUSSEL, F.R. Hábito e seletividade alimentar de pós-larvas de piavuçu, *Leporinus macrocephalus* (Garavello & Britski, 1988), submetidas a diferentes dietas em cultivos experimentais. **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 23, n. 4, p. 829-834, 2001.

RODRÍGUEZ-GUTIERREZ, M.; ESQUIVEL-HERRERA, A. Evaluation of the repeated use of xylocaine as anesthetic for the handling of breeding carp (*Cyprinus carpio*). **Aquaculture**, v. 129, p. 431– 436, 1995.

- ROSE, J.D. The neurobehavioral nature of fishes and the question of awareness and pain. **Reviews in Fisheries Science**, v. 10, p. 1–38, 2002.
- ROSS, B.; ROSS, L.G. The oxygen requirements of *Oreochromis niloticus* under adverse conditions. **Proceedings of the First International Symposium on Tilapia in Aquaculture**, Nazareth, Israel, p. 134–143, 1983.
- ROSS, R.M.; BACKMAN, T.W.H.; BENNETT, R.M. Evaluation of the anesthetic metomidate for the handling and transport of juvenile american shad. **Transactions of the American Fisheries Society**, v. 55, p. 236-243, 1993.
- ROSS, L.G.; ROSS, B. **Anaesthetic and sedative techniques for aquatic animals**. Oxford: Blackwell Science, 1999. 159p.
- ROSS, L.G.; BLANCO, J.S.; MARTÍNEZPALACIOS, C.; RACOTTA, I.S.; CUEVAS, M.T. Anaesthesia, sedation and transportation of juvenile *Menidia estor* (Jordan) using benzocaine and hypothermia. **Aquaculture Research**, v. 38, p. 909-917, 2007.
- ROSS, L.G.; ROSS, B. **Anaesthetic and sedative techniques for aquatic animals**. 3rd ed. Oxford: Blackwell Science, 2008. 236p.
- ROUBACH, R.; GOMES, L. Uso de anestésicos durante o manejo de peixes. **Panorama da Aquicultura**, v. 11, n. 66, p. 37-40, 2001.
- ROUBACH, R.; GOMES, L.C.; LOURENÇO, J.N.P.; FONSECA, F.A.L.; SANTOS, P.J.O.; VAL, A. L. Efficacy of eugenol as an anesthetic in juvenile tambaqui, *Colossoma macropomum*. International Congress on biology of fishes. **Tropical fish: news and news**, p. 93-96, 2001.
- ROUBACH, R.; GOMES, L.C.; LOURENÇO, J.N.P.; FONSECA, F.A.L.; SANTOS, P.J.O.; VAL, A.L. Efficacy of eugenol as anaesthetic for tambaqui juvenile (*Colossoma macropomum*). In: VAL, A.L.; ALMEIDA-VAL, V.M.F.; MCKINLEY, D. (Eds.) **Tropical fish: news and reviews**. Vancouver: International congress on biology of fishes, 2002. p.93-96.
- ROUBACH, R.; GOMES, L.C.; FONSECA, F.A.L.; VAL, A.L.. Eugenol as an efficacious anesthetic for tambaqui (*Colossoma macropomum*). **Aquaculture Res.**, Oxford, v. 36, p. 1056-1061, 2005.
- RUPPERT, E.E.; BARNES, R.D. **Zoologia dos Invertebrados**. 6.ed. São Paulo: Roca, 1994. 1056p.
- RUPPERT, E.E.; BARNES, R.D. **Zoologia dos invertebrados**. 6.ed. São Paulo: Roca, 1996. 1029p.

- SAEED, S.A.; GILANI, A.H. Antithrombotic activity of clove oil. **Journal of Pakistani Medical Association**, v. 44, n. 5, p. 112-115, 1994.
- SANNI, S.; FORSBERG, O.I. Modelling pH and carbon dioxide in single-pass seawater aquaculture systems. **Aquacultural Engineering**, v. 15, p. 91-110, 1996.
- SCHNAIDER, T.B.; SOUZA, C. Aspectos éticos da experimentação animal. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, v. 53, n. 2, p. 278-85, 2003.
- SCHRECK, C.B. Immunomodulation: Engogenous factors. In: IWANA, G.; NAKANISHI, T. (Eds.). **The fish immune system – organism, pathogen and environment**, p. 311-337, 1996.
- SEDGWICK, C.J. Anesthesia in fish. Veterinary Clinics of North America. **Veterinary Clinics of North America. Food and Animal Practice**, v. 2, n. 3, p. 737-742, 1986.
- SEOL, D.W.; LEE, J.; IM, S.Y.; PARK, I.S. Clove oil as an anaesthetic for common octopus (*Octopus minor*, Sasaki). **Aquaculture Research**, v. 38, p. 45-49, 2007.
- SIMÕES, L.N.; GOMES, L.C. Eficácia do mentol como anestésico para juvenis de tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 1, n. 3, p. 613-620, 2009.
- SLADKY, K.K.; SWANSON, C.R.; STOSKOPF, M.K.; LOOMIS, M.R.; LEWBART, G.A. Comparative efficacy of tricaine methanesulfonate and clove oil for use as anesthetics in red pacu (*Piaractus brachypomus*). **American Journal of Veterinary Research**, v. 62, n. 3, p. 337- 342, 2001.
- SMALL, B.C. Anesthetic efficacy of metomidate and comparison of plasma cortisol responses to tricaine methanesulfonate, quinaldine and clove oil anesthetized channel catfish *Ictalurus punctatus*. **Aquaculture**, v. 218, p. 177-185, 2003.
- SMALL, B.C. Effect of dietary cortisol administration on growth and reproductive success of channel catfish. **Journal of Fish Biology**, v. 64, p. 589-596, 2004.
- SCHMIDT-NILSEN, K. **Fisiologia animal: adaptação e meio ambiente**. São Paulo: Editora Santos, 2002.
- SNEDDON, L.U. The evidence for pain in fish: the use of morphine as an analgesic. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 83, p. 153–162, 2003.
- SNEDDON, L.U. Evolution of nociception in vertebrate: comparative analysis of lower vertebrates. **Brain Research Reviews**, v. 46, p. 123–130, 2004.

SOARES, C.M. et al. Substituição parcial e total da proteína do farelo de soja pela do farelo de canola na alimentação de alevinos de piavuçu (*Leporinus macrocephalus*, L.). **Revista Brasileira e Zootecnia**, Viçosa, v. 29, n.1, p. 15-22, 2000.

SOTO, C.; BURHANUDDIN. Clove oil as a fish anaesthetic for measuring length and weight of rabbitfish (*Siganus lineatus*). **Aquaculture**, v. 136, p. 149-152, 1995.

SOUZA JUNIOR, V.B.; ALVES JUNIOR, T.T. A eficácia do óleo de cravo (eugenol) como anestésico no manejo de juvenis de robalo-flecha *Centropomus undecimalis*, mantidos em cativeiro. In: AQUACIENCIA 2006. Bento Gonçalves. **Anais...** Bento Gonçalves: Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia Aquática, CD Rom.

STAURNES, M.; SIGHOLT, T.; PEDERSEN, H.P.; RUSTAD, T. Physiological effects of simulated high-density transport of Atlantic cod (*Gadus morhua*). **Aquaculture**, v. 119, p. 381– 391, 1994.

STECCHINI, M.L.; SARAIS, I.; GIAVEDONI, P. Effects of essential oils on *Aeromonas hydrophila* in a culture medium and in cooked pork. **Journal of Food Protection**, v. 56, n. 5, p. 406409, 1993.

STEHLY, G.R.; GINGERICH, W.H. Evaluation of AQUI-S (efficacy and minimum toxic concentration) as an anaesthetic/sedative for public aquaculture in United States. **Aquaculture Research**, v. 30, p. 345-349, 1999.

STONE, D.; TOSTIN, N. Clove bud oil a big yawn for silver perch. **Fish. NSW Magazine Spring**, v. 19, 1999.

STOSKOPF, M. Anaesthesia. In: Brown, L. (Ed.), **Aquaculture for Veterinarians**. Pergamon Press, Oxford, 1993, p. 161– 167.

SUMMERFELT, R.C.; SMITH, L.S. Anaesthesia, surgery, and related techniques. In: SCHRECK, C. B.; MOYLE, P. B. (Eds.), **Methods for Fish Biology**. American Fisheries Society, Bethesda, MD, 1990, p. 213-272.

SYLVESTER, J.R. Factors influencing the efficacy of MS-222 to striped mullet (*Mugil cephalus*). **Aquaculture**, v. 6, p. 163-169, 1975.

TANCK, M.W.T.; CLAES, T.; BOVEHNIUS, H.; KOMEN, J. Exploring the genetic background of stress using isogenic progenies of common carp selected for high or low stress-related cortisol response. **Aquaculture**, v. 204, p. 419-434, 2002.

TATAJE, D.R.; ZANIBONI FILHO, E. Cultivo do gênero *Leporinus*. In: BALDISSEROTTO, B.; GOMES, L.C. **Espécies nativas para piscicultura no Brasil**. Santa Maria: UFSM, 2005. cap. 4, p. 81-104.

- TAYLOR, P.W.; ROBERTS, S.D. Clove oil: An alternative anaesthetic for aquaculture. **North American Journal of Aquaculture**, v. 61, p. 150–155, 1999.
- THOMAS, P.; LEWIS, D.H. Effect of cortisol on immunity in red drum, *Sciaenops ocellatus*. **Journal of Fish Biology**, v. 31 (Suppl. A), p. 123– 127, 1987.
- TORT, L.; GÓMEZ, E.; MONTERO, D.; SUNYER, O. Serum haemolytic and agglutinating activity as indicators of fish immunocompetence: their suitability in stress and dietary studies. **Aquaculture International**, v. 4, p. 31– 41, 1996.
- TORT, L.; PUIGSERVER, M.; CRESPO, S.; PADROS, F. Cortisol and haematological response in sea bream and trout subjected to the anesthetics clove oil and 2-phenoxyethanol. **Aquaculture Research**, Oxford, v. 33, p. 907-910, 2002.
- TYTLER, P.; HAWKINS, A.D. Vivisection, anaesthetics and minor surgery. In: Hawkins, A.D. (Ed.) **Aquarium Systems**, Academic Press, New York, NY, 1981, p. 247-278.
- UNITED STATES FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. **Scientific literature review of eugenol and related substances in flavor usage**. Flavor Extract Manufacturers Association of the United States, Washington, D.C, 1978.
- UNIVERSITY OF MICHIGAN. **Method of euthanasia by species**. Disponível em: <<http://www.iacuc.anzona.edu/training/surgery/euthanasia.html>>. Acesso em: 29 ago. 2009.
- URBINATI, E.C.; CARNEIRO, P.C.F. Práticas de manejo e estresse dos peixes em piscicultura. In: CYRINO, J.E.P, **Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva**. 1. ed. Jaboticabal: Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia Aquática, 2005, p. 171 – 194.
- VAN WEERD, J.H.; KOMEN, J. The effects of chronic stress on growth in fish: a critical appraisal. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 120 A, p. 107-112, 1998.
- VAZ, M.M.; TORQUATO, V.C.; BARBOSA, N.D. DE C. **Guia ilustrado de peixes da bacia do Rio Grande**. Belo Horizonte, CEMIG e CETEC, 2000, 144p.
- VAZZOLER, A.E.A. de M. **Biologia da reprodução de peixes teleósteos: teoria e prática**. Maringá: EDUEM; São Paulo: SBI, 1996. 169p. il.
- VELÍŠEK, J.; WLASOW, T.; GOMULKA, P.; SVOBODOVÁ, Z.; NOVOTNÝ, L.; ZIOMEK, E. Effects of Clove Oil Anaesthesia on European Catfish (*Silurus glanis* L.). **Acta Veterinária Brunensis**, v. 75, p. 99–106, 2006.

VIDAL, L.V.O.; ALBINATI, R.C.B.; ALBINATI, A.C.L.; DE MACÊDO, G.R. Utilização do Eugenol como Anestésico para o Manejo de Juvenis de Pintado (*Pseudoplatystoma corruscans*). **Acta Scientiarum Biological Sciences**, Maringá, v. 28, n. 3, p. 275 - 279, 2006.

VIDAL, L.V.O.; ALBINATI, R.C.B.; SANTOS NETO, E.B.; DEUS, B.T.; ALBINATI, A.C.L. Influência do peso de juvenis de matrinxã (*Brycon cephalus*) e tambaqui (*Colossoma macropomum*) à ação anestésica do eugenol. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 8, n. 3, p. 212-216, 2007a.

VIDAL, L.V.O.; FURUYA, W.M.; GRACIANO, T. S.; SCHAMBER, C.R.; SANTOS, L.D.; SOARES, C.M. Concentrações de Eugenol para anestesia profunda e toxicidade aguda em juvenis de piavuçu (*Leporinus macrocephalus*). **Acta Scientiarum - Biological Sciences**, Maringá, v. 29, n. 4, p. 357-362, 2007b.

VIDAL, L.V.O.; FURUYA, W.M.; GRACIANO, T.S.; SCHAMBER, C.R.; SILVA, L.C.R.; SANTOS, L.D.; SOUZA, S.R. Eugenol como anestésico para juvenis de matrinxã (*Brycon cephalus*). **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 8, n. 4, p. 335-342, 2007c.

VIDAL, L.V.O.; ALBINATI, R.C.B.; ALBINATI, A.C.L.; LIRA, A.D.; ALMEIDA, T.R.; e SANTOS, G.B. Eugenol como anestésico para a tilápia-do-nilo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 43, n. 8, p. 1069-1074, 2008.

WADDELI, W.J. Thresholds of carcinogenicity of flavors. **Toxicological Science**, v. 68, n. 2, p. 275-279, 2002.

WAGNER, E.; ARNDT, R.; HILTON, B. Physiological stress responses, egg survival and sperm motility for rainbow trout broodstock anaesthetized with clove oil, tricaine methanesulfonate or carbon dioxide. **Aquaculture**, v. 211, p. 353-366, 2002.

WAGNER, G. et al. The ability of clove oil and MS222 to minimize handling stress in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum). **Aquaculture Research**, Oxford, v. 34, p. 1139-1146, 2003.

WALSH, C.T.; PEASE, B.C. The use of clove oil as an anaesthetic for the longfinned eel, *Anguilla reinhardtii* (Steindachner). **Aquaculture Research**, v. 33, p. 627-635, 2002.

WALTER, J. F.; LOCKE, J.C.; NORMOYLE, M.C. **Clove oil as a plant fungicide**. U.S. Patent Number 5,679,351. Issued October 21, 1997.

- WATERSTRAT, P.R. Induction and recovery from anesthesia in channel catfish *Ictalurus punctatus* fingerlings exposed to clove oil. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 30, p.250–255, 1999.
- WATERSTRAT, P.R. Evaluation of eugenol as an anesthetic for the American lobster, *Homerus americanus*. **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 36, p. 420–424, 2005.
- WARING, C.P., STAGG, R.M., POXTON, M.G. Physiological responses to handling in the turbot. **Journal of Fish Biology**, v. 48, p. 161– 173, 1996.
- WARRIS, P.D. The welfare of slaughter pigs during transport. **Animal Welfare**, v. 7, p. 365-381, 1998.
- WEDEMEYER, G.A.; BARTON, B.; McLEAY, D.J. Stress and Acclimation. In: Schreck, C.B., Moyle, P.B. (Eds.), **Methods for Fish Biology**. American Fisheries Society, Bethesda, Maryland, Chapter 14, 1990, p. 451– 489.
- WEDEMEYER, G.A. Effects of rearing conditions on the health and physiological quality of fish in intensive culture. In: Iwama, G.K., Pickering, A.D., Sumpter, J.P., Schreck, C.B. (Eds.), **Fish Stress and Health in Aquaculture**. Cambridge University Press, Cambridge, 1997, p. 35-72.
- WENDELAAR BONGA, S.E. The Stress Response in Fish. **Physiological reviews**, Baltimore, v. 87, p. 591-625, 1997.
- WOODY, C.A.; NELSON, J.; RAMSTAD, K. Clove oil as an anaesthetic 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. **Word Aquaculture**, v. 26, p. 80-81, 1995.
- YASUI, A.N.; YASUI, G.S.; SHIMODA, E.; RIBEIRO-FILHO, O.P. Concentration of anesthetic for long-term exposure and the effects of inter-suture distance in the goldfish *Carassius auratus*. **Acta Scientiarum Biological Sciences**, Maringá, v. 31, n. 2, p. 203-207, 2009.
- YOKOHAMA, Y.; YOSHIKAWA, H.; UENO, S.; MITSUDA, H. Application of CO₂ anesthesia combined with low temperature for long-term anesthesia in carp. **Bulletin on the Japanese Society of Scientific Fisheries**, v. 55, p. 1203-1209, 1989.
- YOSHIKAWA, H.; UENO, S.; MITSUDA, H. Short-and longterm cold anesthesia in carp. **Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries**, v. 55, p. 491-498, 1989.

ZHENG, G.; KENNEY, P.M.; LAM, L.K.T. Sesquiterpenes from clove oil, *Eugenia caryophyllata* as potential anticarcinogenic agents. **Journal of Natural Products**, v. 55, p. 999-1003, 1992.