

ANGÉLICA DA SILVA OLIVEIRA

**AVALIAÇÃO DE TRÊS ANESTÉSICOS PARA ESPÉCIES DE
PEIXES REPRODUTORES UTILIZANDO O MÉTODO DE
IMERSÃO**

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

ANGÉLICA DA SILVA OLIVEIRA

**AVALIAÇÃO DE TRÊS ANESTÉSICOS PARA ESPÉCIES DE
PEIXES REPRODUTORES UTILIZANDO O MÉTODO DE
IMERSÃO**

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

Dr. Rodrigo Diana Navarro

Prof. José Teixeira de Seixá Filho
(Co-orientador)

Prof^a. Ita de Oliveira e Silva

Prof. Luiz Carlos dos Santos
(Co-orientador)

Prof. Oswaldo Pinto Ribeiro Filho
(Orientador)

À minha mãe, Ângela Maria de Oliveira, por me ajudar em TUDO sem medir esforços.

À memória de meu pai, Eli de Oliveira (sempre presente em meu coração), por sempre ter me apoiado nos estudos.

À minha irmã Érika Flávia de Oliveira pelo apoio, conselhos, amizade.

Ao meu eterno “bebê”, presente de Deus, meu irmão Bruno Oliveira.

À memória da minha tia Dalva (sempre presente em meu coração), que Deus levou há tão pouco tempo, por sempre demonstrar orgulho pela minha caminhada acadêmica.

AGRADECIMENTOS

OBRIGADA meu DEUS. Exaltado e Engrandecido seja Teu nome por esta bênção concedida.

Agradeço ESPECIALMENTE a minha mãe. Muito obrigada pelo apoio, sem você nada seria possível!

Agradeço aos meus irmãos Érika Flávia de Oliveira e Bruno Oliveira por estarem sempre ao meu lado me ajudando.

Às minhas avós, Anália Rosa da Silva e Nair Alzira de Oliveira pelo carinho.

Aos queridos tios, tias e meus primos “amigos”, pelas orações, apoio e carinho.

À Christiane de Oliveira Valente, companheira desde a graduação, amiga de todas as horas e momentos.

Rodrigo Yutaka Dichoff Kasai, agradeço por sua contribuição aqui em Viçosa.

À Universidade Federal de Viçosa, em especial ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal pela oportunidade para obtenção do título de mestre.

Ao Prof. Oswaldo Pinto Ribeiro Filho, pela orientação.

Aos os professores Luiz Carlos dos Santos e José Cola Zanuncio pela coorientação.

Aos professores José Teixeira de Seixas Filho e Ita de Oliveira e Silva, e, ao Dr. Rodrigo Diana Navarro, muito obrigada por aceitarem o convite para participarem da banca.

Ao professor Paulo Cecon pela contribuição nas análises estatísticas dessa dissertação.

Ao Dr. João Batista Teixeira, por conceder os peixes e as instalações do laboratório de seu sítio para a realização do experimento.

Ao Marcelo, Gabriel e Marcelo Maia pela contribuição para a realização deste trabalho.

Obrigada a todos que torceram pela minha vitória e que me ajudaram.

BIOGRAFIA

ANGÉLICA DA SILVA OLIVEIRA, filha de Eli de Oliveira (*in memorian*) e Angela Maria de Oliveira, nasceu em 02 de outubro de 1978, na cidade de Ipatinga, Minas Gerais.

Em 2005, graduou-se em Ciências Biológicas, pelo Centro Universitário do Leste de Minas Gerais (Unileste-MG), em Coronel Fabriciano, Minas Gerais.

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 quatro de dezembro de 2009.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE TABELAS	vii
LISTA DE FIGURAS	ix
RESUMO	xi
ABSTRACT	xiii
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. OBJETIVOS	4
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	5
4. MATERIAL E MÉTODOS	16
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	23
6. CONCLUSÃO.....	53
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS	54
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	55

LISTA DE TABELAS

	Página
TABELA 1. Estágios de anestesia em peixe.....	21
TABELA 2. . Estágios de recuperação anestésica.....	22
TABELA 3. Resumo da análise de variância do tempo de indução (TI) e Tempo de Recuperação (TR), dos Anestésicos (A) e das Concentrações (C) para o pacu (<i>Piaractus mesopotamicus</i>).....	27
TABELA 4. Valores médios do tempo de indução e do tempo de recuperação para as respectivas combinações de anestésicos e concentrações para o pacu (<i>Piaractus mesopotamicus</i>).....	28
TABELA 5. Equações de regressão ajustadas das variáveis Tempo de Indução (TI) e Tempo de recuperação (TR) em função das concentrações (C) dos respectivos anestésicos e os coeficientes de determinação para o pacu (<i>Piaractus mesopotamicus</i>).....	30
TABELA 6. Resumo da análise de variância do tempo de indução (TI) e Tempo de Recuperação (TR) dos anestésicos (A) e das Concentrações(C), para a tilápia-do-nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>) tailandesa	37
TABELA 7. Valores médios de TI e TR para as respectivas combinações de anestésicos e concentrações para a tilápia-do-nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>) tailandesa.....	38
TABELA 8. Equações de regressão ajustadas das variáveis Tempo de Indução (TI) e Tempo de recuperação (TR) em função das concentrações (C) dos respectivos anestésicos e os coeficientes para a tilápia-do-nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>) tailandesa.....	40

LISTA DE TABELAS

Página

TABELA 9. Resumo da análise de variância do Tempo de Indução (TI) e Tempo de Recuperação (TR) dos anestésicos (A) mentol e benzocaína e das Concentrações (C) para o matrinxã (<i>Brycon cephalus</i>).....	48
TABELA 10. Valores médios de TI (Tempo de indução) em segundos do mentol (AN1) e benzocaína (AN2) para o matrinxã (<i>Brycon cephalus</i>).....	48
TABELA 11. Equações de regressão ajustadas das variáveis: Tempo de Indução (TI) e Tempo de recuperação (TR) em função das concentrações (C) do mentol e da benzocaína e os coeficientes de determinação para o matrinxã (<i>Brycon cephalus</i>).....	49
TABELA 12. Médias estimadas para o Tempo de Indução (TI) e o Tempo de Recuperação (TR), em função da concentração (C) para o eugenol utilizado como anestésico em matrinxã (<i>Brycon cephalus</i>).....	51

LISTA DE FIGURAS

	Página
FIGURA 1. Exemplar de Pacu (<i>Piaractus mesopotamicus</i>) imerso em solução anestésica.....	18
FIGURA 2. Medida do comprimento padrão (cm) de um exemplar de pacu (<i>Piaractus mesopotamicus</i>), com o uso de uma trena.....	19
FIGURA 3. Determinação de peso de um exemplar de pacu (<i>Piaractus mesopotamicus</i>).....	19
FIGURA 4. Acondicionamento de um exemplar de pacu (<i>Piaractus mesopotamicus</i>), no tanque de recuperação da anestesia	25
FIGURA 5. Exemplar de Tilápia-do-nilo tailandesa (<i>Oreochromis niloticus</i>), no tanque de recuperação da anestesia.....	25
FIGURA 6. Exemplar de Matrinxã (<i>Brycon cephalus</i>) no tanque de recuperação da anestesia.....	26
FIGURA 7. Tempo de indução de pacus (<i>Piaractus mesopotamicus</i>) Submetidos a diferentes concentrações de benzocaína.....	32
FIGURA 8. Tempo de recuperação de pacus (<i>Piaractus mesopotamicus</i>) submetidos a diferentes concentrações de benzocaína.....	33
FIGURA 9. Tempo de indução de pacus (<i>Piaractus mesopotamicus</i>) Submetidos a diferentes concentrações de óleo de cravo.....	34

LISTA DE FIGURAS

Página

FIGURA 10. Tempo de recuperação de pacus (<i>Piaractus mesopotamicus</i>) submetidos a diferentes concentrações de óleo de cravo.....	35
FIGURA 11. Tempo de recuperação de tilápias-do-nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>) tailandesas, submetidas a diferentes concentrações de mentol.....	41
FIGURA 12. Tempo de indução de tilápias-do-nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>) tailandesas, submetidas a diferentes concentrações de benzocaína.....	42
FIGURA 13. Tempo de recuperação de tilápias-do-nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>) tailandesas, submetidas a diferentes concentrações de benzocaína.....	43
FIGURA 14. Tempo de indução de tilápias-do-nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>) tailandesas, submetidas a diferentes concentrações de óleo de cravo.....	44
FIGURA 15. Tempo de recuperação de tilápias-do-nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>) tailandesas, submetidas a diferentes concentrações de óleo de cravo.....	46
FIGURA 16. Tempo de indução dos matrinxãs (<i>Brycon cephalus</i>) submetidos à anestesia de mentol e benzocaína em diferentes concentrações.....	50

RESUMO

OLIVEIRA, Angélica da Silva, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, dezembro de 2009. **Avaliação de três anestésicos para espécies de peixes reprodutores utilizando o método de imersão.** Orientador: Oswaldo Pinto Ribeiro Filho. Co-orientadores: Luiz Carlos dos Santos, José Cola Zanuncio e José Teixeira de Seixas Filho.

Avaliou-se o efeito do mentol, da benzocaína e do óleo de cravo em pacu (*Piaractus mesopotamicus*), tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*) tailandesa, e matrinxã (*Brycon cephalus*). Foram testadas as concentrações de 100, 150, 200 e 250 mg/L de cada anestésico, e três animais para cada dosagem. Para o matrinxã, o eugenol foi analisado apenas nos tratamentos de 100 e 150 mg/L. Os tempos de indução à anestesia e da recuperação foram registrados. Não ocorreram mortalidades durante e 72 h após o experimento. As concentrações de 100 e 150 mg/L de óleo de cravo, e todas as dosagens do mentol e benzocaína testadas, induziram os pacus à anestesia profunda. As concentrações de 200 e 250 mg/L de óleo de cravo, levaram os pacus à anestesia cirúrgica. O mentol induziu as tilápias à anestesia profunda, nas dosagens de 100 e 150 mg/L, porém 200 e 250 mg/L deste anestésico induziram as tilápias à anestesia cirúrgica. Todas as concentrações testadas da benzocaína induziram esses animais à anestesia cirúrgica. Todos os tratamentos com óleo de cravo levaram as tilápias à anestesia profunda. Os três anestésicos, em todas as concentrações avaliadas, levaram os matrinxãs à anestesia profunda. Concluiu-se que o mentol, o óleo de cravo e a benzocaína são anestésicos de fácil manipulação, seguros para os operadores, apresentam boa margem de segurança para o pacu, matrinxã e tilápia-do-nilo tailandesa, e são eficazes para induzir estas espécies estudadas à anestesia. A concentração de 100 mg/L de mentol, óleo de cravo e benzocaína, foi a melhor para induzir pacu à anestesia profunda. A dosagem de 200 mg/L de óleo de cravo foi a mais eficaz para induzir pacu à anestesia cirúrgica. A dosagem de 100 mg/L de mentol foi mais eficiente para induzir a tilápia-do-nilo tailandesa à anestesia profunda. E, 200 mg/L de mentol foi a melhor dosagem para induzir a tilápia à anestesia cirúrgica. A concentração 100 mg/L de benzocaína foi a mais eficiente para induzir tilápia-do-nilo tailandesa à anestesia cirúrgica. Para a indução da tilápia-do-nilo tailandesa à anestesia profunda, a dosagem de 150 mg/l de óleo de

cravo foi a mais eficaz. A concentração de 100 mg/L de mentol, benzocaína e óleo de cravo foi a mais eficiente para induzir o matrinxã à anestesia profunda.

ABSTRACT

OLIVEIRA, Angélica da Silva, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, December of 2009. **Evaluation of three anaesthetics for species of reproductive fish using the immersion method.** Adviser: Oswaldo Pinto Ribeiro Filho. Co-Advisers: Luiz Carlos dos Santos and José Cola Zanuncio.

Were evaluated the anesthetic effects of menthol, benzocaine and the clove oil in pacu (*Piaractus mesopotamicus*), Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*), of the chitralada ancestry, and matrinxã (*Brycon cephalus*). Were tested in concentrations of 100, 150, 200 and 250 mg/L of each anaesthetic, being three animals for each dosage. For matrinxã, oil of clove was analyzed only in the treatments of 100 and 150 mg/L. The time of induction to the anesthesia and the recovery were recorded. There were no mortality during and 72 hours after the experiment. Concentrations of 100 and 150 mg/L of clove oil, and all dosages the menthol and benzocaine tested induced the pacus to the deep anesthesia. Concentrations of the 200 and 250 mg/L of clove oil, took the stage to pacus surgical anesthesia. The menthol induced the tilapia to deep anesthesia, at dosages of 100 and 150 mg/L, and 200 and 250 mg/L of this anaesthetic induced the tilapia to the surgical anesthesia. All tested concentrations of benzocaine induced these animals to the surgical anesthesia. And all the treatments with clove oil tilapia led to the stage of deep anesthesia. The three anaesthetics, at all concentrations evaluated, led matrinxãs to the stage of deep anesthesia. The menthol, benzocaine and clove oil were easily manipulated, and offered security for the operator during the biometrics and marking of the fish. These anaesthetics were effective to induce pacu, tilapia of the tailandesa Nile and matrinxãs, to the anesthesia. The concentration of 100 mg/L menthol, clove oil and benzocaine, was better to induce pacu (*Piaractus mesopotamicus*) to deep anesthesia. The dosage of 200 mg/L of clove oil was more effective to induce surgical anesthesia for pacu. The dosage of 100 mg/L of menthol was more efficient to induce the Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) tailandesa to the stage of deep anesthesia. The dosage of 200 mg/L mentol was the best dosage to induce tilapia for surgical anesthesia. The concentration 100 mg/L of benzocane was the most efficient to induce tilapia of the tailandesa Nile to surgical anesthesia. For the induction of tilapia of the tailandesa Nile to

the stage of deep anesthesia, the dosage of 150 mg/l of clove oil was the most effective. The concentration of 100 mg/L of menthol, benzocainn and clove oil was the most efficient to induce the matrinxã (*Brycon cephalus*) to the stage of deep anesthesia.

1. INTRODUÇÃO

A piscicultura é uma atividade em grande expansão nacional (ANTUNES et al., 2008). Em pisciculturas, os peixes são submetidos a diversos fatores estressantes como, por exemplo, manejo, transporte, biometria e reprodução induzida (SINGLEY e CHAVIN, 1971; FRYER, 1975; DONALDSON, 1981; WEDEMEYER e MCLEAY, 1981; VIDAL et al., 2008).

O uso de agentes anti estresse é uma prática comum na aquicultura moderna (VELÍŠEK et al., 2009). Os anestésicos são utilizados para induzir os peixes à anestesia durante o manejo, transporte, seleção, marcação, cirurgias e procedimentos para a reprodução artificial (MCFARLAND, 1960; WESTERFIELD, 1993; GUNN, 2000; WAGNER et al., 2002; ACERATE et al., 2004; ROUBACH et al., 2005; KIESSLING et al., 2009; WEBER et al., 2009). Dessa forma, o uso de anestésicos não somente ajuda a impedir danos aos peixes, mas também atenua os níveis de estresse (MCFARLAND, 1960; WESTERFIELD, 1993; GUNN, 2000; WAGNER et al., 2002; PIRHONEN e SCHRECK, 2003; ACERATE et al., 2004; ROUBACH et al., 2005; ROSS e ROSS, 2008; KIESSLING et al., 2009; WEBER et al., 2009).

A anestesia deve ser realizada de forma eficiente tanto do ponto de vista biológico quanto econômico. Biologicamente, a operação tem por objetivo anestésiar os peixes sem causar nenhum problema no crescimento e na reprodução. Do ponto de vista econômico, a utilização de uma dose correta de anestésico é fundamental para evitar desperdícios do produto ou a morte dos peixes por “overdose” (ROUBACH e GOMES, 2001).

Não há legislação internacional quanto à utilização de anestésicos químicos em peixes destinados ao consumo humano (VIDAL et al., 2008). Geralmente são seguidas as recomendações da FDA (Food and Drug Administration) dos Estados Unidos da América (EUA), a qual regulamenta que químicos podem ser utilizados em peixes destinados ao consumo (COYLE, 2004). Alguns anestésicos são aprovados para uso na aquicultura de alguns países. Por exemplo, o metanosulfonato de triclaína (MS-222) é aprovado para uso no Reino Unido, nos EUA, na União Européia, Noruega, Filipinas e na nova Zelândia; a benzocaína é aprovada para uso nos EUA e na nova Zelândia

(ROSS e ROSS, 2008). Porém, os peixes anestesiados com MS-222 e benzocaína nos EUA precisam de um período de depuração da droga de 21 dias, antes de serem destinados ao consumo; no Reino Unido e na Nova Zelândia, para o MS-222 são necessários dez dias de depuração; e, não existe período específico de depuração para a benzocaína na Nova Zelândia (ROSS e ROSS, 2008).

No Brasil, não existem leis específicas regularizando o uso de substâncias químicas para anestésias peixes (FAÇANHA e GOMES, 2005; DELBON, 2006). Deste modo, também são adotadas as recomendações da FDA (FAÇANHA e GOMES, 2005; DELBON, 2006).

A escolha de um anestésico deve estar relacionada com sua viabilidade econômica, disponibilidade, praticidade no uso, eficácia e segurança para o usuário (CHO e HEATH, 2000). Substâncias químicas como o metanosulfonato de triclaína (MS-222) são utilizadas amplamente em anestesia, porém, além de ser um anestésico importado e de alto custo (ROUBACH e GOMES, 2001), apresenta muitas inconveniências como inchaço dos eritrócitos, hipóxia e hiperglicemia (ROSS e ROSS, 2008), irritação das brânquias, danos córneos e também alguns transtornos aos trabalhadores pela necessidade de utilização de luvas (CUNHA, 2007). Atualmente, estudos têm reportado anestésicos naturais com boa disponibilidade no mercado e baixo custo, como o eugenol (CUNHA, 2007) e o mentol (GONÇALVES, et al., 2008). Produtos químicos como a benzocaína, também têm sido utilizados recentemente como anestésicos para peixes, por reunir características relevantes como: eficácia, baixo custo (OKAMOTO et al., 2009), baixa toxicidade para os manipuladores e que possuam boa margem segurança para os peixes (ROSS e ROSS, 2008).

O cuidado com os peixes reprodutores é crucial para determinar, em um sistema de produção, o sucesso de sobrevivência da prole. Segundo TYTLER e HAWKINS (1981), o esforço característico do peixe, durante sua captura ou manejo, afeta sua fisiologia e comportamento, sendo necessário imobilizá-lo antes mesmo de tentar executar o procedimento mais simples. Os anestésicos são utilizados para tranquilizar os peixes reprodutores durante o transporte e manejo, sendo que a anestesia desses animais proporciona vantagens: os peixes se acalmam, logo, não saltam, reduzindo a possibilidade de se machucarem, facilidade de manipulação dos reprodutores grandes, e, quando

submetidos ao processo de extrusão, as chances deles de espalharem os ovos são minimizadas (WOYNAROVICH e HORVÁTH, 1989).

A maioria das pesquisas que estudam os efeitos dos anestésicos em peixes utiliza alevinos e juvenis, de maneira que dados sobre a ação destes fármacos em peixes reprodutores são ainda escassos.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar os efeitos dos anestésicos do óleo de cravo, benzocaína e mentol em reprodutores de pacu (*Piaractus mesopotamicus*), matrinxã (*Brycon cephalus*) e tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*) tailandesa, utilizando o método de imersão.

2.2 Objetivos Específicos

Avaliar os tempos de indução à anestesia e de recuperação do pacu (*Piaractus mesopotamicus*), do matrinxã (*Brycon cephalus*) e da tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*) tailandesa, utilizando óleo de cravo, benzocaína e mentol como anestésicos.

Determinar os efeitos anestésicos do óleo de cravo, benzocaína e mentol nas espécies estudadas.

Comparar o tempo de indução à anestesia e o tempo de recuperação entre os anestésicos testados, para cada espécie estudada.

Avaliar a sobrevivência dos peixes após serem submetidos aos tratamentos anestésicos.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Anestesia em Peixes

A anestesia é um processo reversível que provoca perda de sensação de todo ou em parte do corpo e que resulta em depressão da função nervosa, causada por um fármaco (WILLIAMS e WILKINS COMPANY, 1982).

Os anestésicos são agentes químicos ou físicos, que com o aumento da exposição ou concentração, primeiro acalmam (sedam) um animal e depois causam perda de mobilidade, equilíbrio, consciência e finalmente das reações reflexas (COYLE et al., 2004), por evitarem o início e condução do impulso nervoso (SUMMERFELT e SMITH, 1990). Um anestésico deve apresentar ação rápida sobre o sistema nervoso, sem complicações posteriores para o peixe, além de ser econômico e de fácil manipulação (SYLVESTER, 1975; PIRHONEN e SCHERECK, 2003). Podem ser solúveis ou insolúveis em água; os insolúveis são primeiramente dissolvidos em um solvente orgânico e posteriormente diluídos na água (BOWSER, 2001).

Os anestésicos podem ser injetados no peixe, embora a maioria seja administrada na água (BOWSER, 2001; ROUBACH e GOMES, 2001). Quando administrado na água, o anestésico entra através das brânquias e da pele no sistema circulatório do peixe, bloqueando algumas ações reflexas (SUMMERFELT e SMITH, 1990). Segundo ROSS e ROSS (2008), a solução da droga é absorvida pelas brânquias dos peixes, suas moléculas se difundem rapidamente para o espaço sanguíneo na lamela secundária, que drena para o sangue da artéria eferente, sendo esta uma rota muito curta para o sistema nervoso central.

Alguns agentes anestésicos reúnem características desejáveis: facilidade de administração, eficaz a baixas doses, fornece previsivelmente sedação ou anestesia, induzi rapidamente o estado desejado, recuperação rápida e tranqüila, boa margem de segurança para o peixe, seguro para os operadores, baixo custo, fáceis de serem obtidos (ROSS e ROSS, 2008).

COYLE et al.(2004) reportou que a maioria dos anestésicos pode produzir vários níveis ou estágios de anestesia nos peixes, caracterizando-os em quatro etapas: (1) sedação, com movimento e respiração reduzida; (2)

anestesia, com perda parcial do equilíbrio e o peixe não reage a estímulo por toque; (3) anestesia cirúrgica, com a perda total do equilíbrio e o peixe não reage a estímulo por toque e (4) morte, em que ocorre parada da respiração e dos batimentos cardíacos. No entanto ROUBACH e GOMES (2001) caracterizaram seis estágios de indução à anestesia: (1) sedação leve, caracterizado por perda de reação aos estímulos visuais e ao toque; (2) anestesia leve, em que ocorre perda parcial do equilíbrio; (3) anestesia profunda, caracterizada pela perda total do equilíbrio; (4) anestesia cirúrgica I, em que ocorre a diminuição dos movimentos operculares; (5) anestesia cirúrgica II, com mínimo movimento opercular, e o peixe fica estático e (6) colapso medular, caracterizado por overdose ou tempo excessivo de anestesia.

Geralmente, a maioria dos peixes passa por todas as fases de anestesia. Entretanto, podem ocorrer variações nas diferentes espécies, no tipo de anestésico empregado e na dose aplicada (DELBON, 2006). Algumas dessas fases podem não ocorrer no processo anestésico de certos peixes (BROWN, 1993). A avaliação dos diferentes estágios de anestesia que um agente anestésico para peixes pode induzir é bastante subjetiva, e, muitas vezes, é difícil diferenciar o momento da passagem de um estágio de anestesia para outro (GILDERHUS e MARKING, 1987). Essa depende de uma série de fatores, como por exemplo, a habilidade de quem está manipulando os peixes e dos procedimentos a serem realizados (BURKA et al., 1997).

Cada anestésico exige uma concentração diferente para induzir o estágio de anestesia desejado (ROUBACH e GOMES, 2001), podendo ainda variar de acordo com a espécie (SUMMERFELT e SMITH, 1990). Por exemplo, HISANO et al. (2008) observaram que juvenis de dourado (*Salminus brasiliensis*) pesando cerca de 21 g, com comprimento total de aproximadamente 13 cm, expostos a diferentes concentrações de óleo de cravo (20, 30, 40, 50 e 60 mg L⁻¹), atingiram o terceiro estágio de anestesia (anestesia profunda), caracterizado pela perda total do equilíbrio e da capacidade de não restabelecer a posição normal de nado. De acordo com GIMBO et al. (2008), a concentração de 100 mg/L de benzocaína é a melhor para a indução da anestesia profunda do lambari-do-rabo-amarelo (*Astyanax altiparanae*).

Para realizar a biometria e o manejo de peixes reprodutores, normalmente utiliza-se o estágio de anestesia profunda o qual deve ser atingido em três minutos. Para avaliações de sanidade e intervenções cirúrgicas o estágio desejado é o de anestesia cirúrgica, e este deve ser alcançado entre 3 a 5 minutos (ROUBACH e GOMES, 2001).

HIKASA et al. (1986) estabeleceu cinco os estágios de recuperação à anestesia dos peixes: (1) reaparecimento dos movimentos operculares; (2) retorno parcial do equilíbrio e da capacidade de nado; (3) recuperação total do equilíbrio; (4) nado e reação para estímulos externos ainda vacilantes e (5) total recuperação do equilíbrio e capacidade normal de nado.

Peixes submetidos à anestesia devem se recuperar rapidamente; tempos inferiores a cinco minutos são considerados adequados (ROUBACH e GOMES, 2001). Para COYLE et al. (2004), a recuperação inicial do peixe pode levar de alguns segundos a vários minutos, e a completa recuperação pode ocorrer de minutos a horas, ambas dependendo do anestésico administrado e da espécie utilizada. GILDERHUS e MARKING (1987), SON et al. (2001) e PARK et al. (2003) consideram 10 minutos o limite máximo para o tempo de recuperação.

De acordo com BROWN (1993), COYLE et al., (2004) e ROSS e ROSS (2008), se o peixe não se recuperar da anestesia, ou não apresentar movimentos operculares, devem ser realizados os seguintes procedimentos: aumentar o fluxo de água livre de anestésico sobre as brânquias para acelerar e normalizar o batimento cardíaco; mover o peixe para frente e para trás no tanque de recuperação ou delicadamente passar água sobre as brânquias com uma mangueira. Esses procedimentos levam ao aumento do fluxo de sangue nas brânquias e elimina a droga mais rapidamente.

Alguns fatores biológicos podem influenciar a anestesia em peixes, por exemplo, diferenças inter-específicas no formato do corpo e no tamanho da área branquial, e diferenças intra-específicas, como tamanho, variações na taxa metabólica e quantidade de gordura corporal (BURKA et al., 1997; ROUBACH e GOMES, 2001; COYLE et al., 2004; ROSS e ROSS, 2008). ROSS e ROSS (2008) mencionaram que em tilápia é bem conhecido que alevinos anestesiados junto com peixes bem maiores, surpreendentemente recuperam-se rapidamente dos efeitos das drogas. O MS-222 e a benzocaína

podem ser solúveis na gordura, conseqüentemente, em peixes maiores e mais velhos, que possuem maior deposição de gordura nos corpos, ou em fêmeas grávidas, a duração da anestesia pode ser prolongada e a recuperação pode ser mais lenta, porque a droga é removida aos poucos das reservas lipídicas através das brânquias ou do rim ou por degradação metabólica (COYLE et al., 2004; ROSS e ROSS, 2008).

BROWN (1993), ROUBACH e GOMES (2001), COYLE et al. (2004) e ROSS e ROSS (2008) também relatam que pH e a temperatura como um dos principais fatores ambientais que afetam a anestesia de peixes. ROUBACH e GOMES (2001) citaram que a temperatura determina a taxa metabólica do peixe e, que em temperaturas mais altas, essa taxa metabólica é mais alta e conseqüentemente a indução à anestesia é mais rápida. De acordo com HOSKONEN e PIRHONEN (2004), temperaturas mais elevadas aceleram o metabolismo, reduzindo o tempo de recuperação à anestesia. Segundo COYLE et al. (2004), em baixas temperaturas da água, altas doses ou longo período de exposição são exigidos com MS-222 e benzocaína, presumidamente porque a taxa de absorção diminui a baixas temperaturas. Sendo assim, a passagem físico-química da droga dentro do peixe está também relacionada com a temperatura (COYLE et al., 2004; ROSS e ROSS, 2008) . De acordo com HOSKONEN e PIRHONEN (2004), a temperatura apresenta forte influência sobre o efeito anestésico do óleo de cravo nos peixes. Eles observaram que, testando as temperaturas de 5, 10, 15 e 20°C, o aumento da temperatura provocou diminuição no período necessário para indução e recuperação anestésica em seis espécies de peixes. Segundo VIDAL et al. (2006), a temperatura da água deve ser considerada, uma vez que esse parâmetro possui forte influência na velocidade com que os animais atingirão os diferentes estágios anestésicos.

Quanto ao pH, este está diretamente ligado a eficiência de certos anestésicos como a quinaldina, que perde sua eficácia em soluções com baixo pH. (BURKA et al., 1997; ROUBACH e GOMES, 2001; COYLE et al., 2004; ROSS e ROSS, 2008). O MS-222, por ser muito ácido, abaixa o pH da água, sendo essa acidificação prejudicial aos peixes, pois pode causar-lhes efeitos fisiológicos indesejáveis (ROUBACH e GOMES, 2001; COYLE et al., 2004).

3.2 Anestésicos utilizados em peixes

3.2.1 Óleo de Cravo

O óleo de cravo recentemente tem sido apontado como um anestésico potencial para peixe (HAJEK et al., 2006). É destilado das flores, hastes e folhas de *Syzygium aromaticum* (isto é, *Eugenia aromaticum*) ou *Eugenia caryophyllata* (ROSS e ROSS, 2008). Também tem sido bastante divulgado por ser um produto natural (HONCZARYK e INOUE, 2009).

O eugenol (2-Methoxy-4-prop-2-enyl-phenol), com fórmula molecular (C₁₀-H₁₂-O₂) (ROSS e ROSS, 2008), é o componente ativo do óleo de cravo (ANDERSON et al., 1997; BRESSLER e RON, 2004; HAJEK et al., 2006). Sua concentração varia de 70 a 95% da composição total do óleo essencial do cravo (MAZZAFERA, 2003).

O óleo de cravo é usado como anestésico na medicina humana e odontologia e é aprovado para uso como um anestésico local em humanos nos Estados Unidos pela Federal Drug Administration (FDA) (NAGABABU e LAKSHMAIAH, 1992; SOTO e BURHANUDDIN, 1995). Possui propriedades antifúngica, antiviral, analgésica, antibacteriana e antimicótica (HUSSAIN et al., 2000).

Além de apresentar ampla disponibilidade no mercado, eficácia e baixo custo, o eugenol é considerado seguro para o meio ambiente, para os peixes e para o manipulador (ROUBACH et al., 2005; CUNHA, 2007). Este anestésico também possui como vantagem ser metabolizado e excretado rapidamente no organismo do animal, não requerendo tempo de carência (WAGNER et al., 2002; KANG et al., 2005). De acordo com KILDEA et al. (2004), o eugenol é completamente eliminado do tecido do peixe 48 h após a exposição. Portanto, o eugenol não causa risco à saúde do consumidor (CHO e HEATH, 2000; BRESSLER e RON, 2004).

A utilização do eugenol em peixes acontece na forma de banho de imersão, porém em razão da natureza hidrofóbica da substância, deve-se fazer uma solução-estoque em álcool e, após isso, o anestésico pode ser diluído em água (VIDAL et al., 2008).

Vários estudos têm reportado a eficácia do óleo de cravo: juvenis de tilápia-do-nilo, *Oreochromis niloticus* (VIDAL et al., 2008), juvenis de piavuçu, *Leporinus macrocephalus* (VIDAL et al., 2007c), juvenis de matrinxã, *Brycon cephalus* (VIDAL et al., 2007a), Catfish europeu, *Silurus glanis* L. (VELÍŠEK et al., 2006), carpa comum, *Ciprinus carpio* (HAJEK et al., 2006), juvenis de dourado, *Salminus brasiliensis* (HISANO et al., 2008).

3.2.2 Benzocaína

A benzocaína (Ethyl 4-aminobenzoate), com fórmula molecular (C₉-H₁₁-N-O₂) (ROSS e ROSS, 2008), é um cristal branco, quimicamente similar ao MS-222 (COYLE et al., 2004; ROSS e ROSS, 2008). Assim como o MS-222 (3-aminobenzoic acid ethyl ester methanesulfonate), a benzocaína é derivada do ácido *p*-aminobenzoico (BOLASINA, 2006) e, por isso, provoca redução da ventilação nas brânquias devido a depressão dos centros medulares respiratórios, tendo a hipóxia como consequência (DELBON, 2006). Por ser um anestésico sintético, tem como característica a possibilidade de causar efeitos adversos nos peixes, tais como perda de muco, irritação das brânquias e danos nas córneas (INOUE et al., 2003). De acordo com ROUBACH e GOMES (2001) e COYLE et al. (2004), a benzocaína é uma solução neutra, dessa forma, causa menos agitação e irritação aos peixes do que o MS-222.

Por ter baixa solubilidade na água, a benzocaína deve primeiramente ser dissolvida em etanol ou acetona (BURKA et al., 1997; COYLE et al. 2004; ROSS e ROSS, 2008). O parâmetro usado é preparar uma solução estoque em etanol ou acetona (geralmente 100 g/L) podendo ser mantida por mais de um ano quando fechada em uma garrafa escura (COYLE et al., 2004).

De acordo com MEINERTZ (1999), a benzocaína é utilizada como anestésico geral para peixes pelo método de imersão. ROUBACH e GOMES (2001) reportaram que a benzocaína é um anestésico seguro para os peixes, pois ocorre mortalidade somente quando eles são expostos a uma dose três vezes maior do que a ideal, e que peixes anestesiados com uma dose considerada ideal por até 30 minutos não morrem.

A benzocaína é bastante utilizada, pois tem baixo custo, boa disponibilidade no mercado (GILDERHUS e MARKING, 1987; GILDERHUS,

1989; ROUBACH e GOMES, (2001) e baixo risco aparente de intoxicação aos operadores (ALLEN, 1988; GOMES et al., 2001; ROUBACH e GOMES, 2001, ROSS e ROSS, 2008). ANTUNES et al. (2008) observaram que a indução à anestesia com benzocaína ocorre entre dois a quatro minutos, e a recuperação em tempo inferior a dez minutos. A exposição a este anestésico não prejudica o crescimento ou a capacidade reprodutiva das espécies de peixes testadas (ROSS e ROSS, 2008; ROUBACH e GOMES, 2001). A dureza e o pH da água não afetam a eficácia deste fármaco (IVERSEN et al., 2003; ROSS e ROSS, 2008). Por ser um anestésico solúvel em gordura, o tempo de recuperação à anestesia pode ser prolongado em animais mais velhos ou em fêmeas grávidas, ou seguido de longa exposição (ROSS e ROSS, 2008).

A benzocaína é aprovada para uso na aquicultura dos EUA e da Nova Zelândia, e, seguindo as recomendações da FDA, o período de depuração para os peixes anestesiados com esse fármaco nos EUA é de 21 dias, e na Nova Zelândia não existe um tempo específico de retirada da droga (ROSS e ROSS, 2008).

Vários estudos têm relatado a ação da benzocaína como um anestésico eficaz em diferentes espécies de peixes, como por exemplo, em lambari-dorabo-amarelo, *Astyanax altiparanae* (GIMBO et al., 2008); juvenis de matrinxã, *Brycon caphalus* (INOUE et al., 2004); juvenis de tambaqui, *Colossoma macropomum* (GOMES et al., 2001); juvenis do pampo, *Trachinotus marginatus* (OKAMOTO et al., 2009); Juvenis de tilápia, *Oreochromis niloticus* (DELBON, 2006).

3.2.3 Mentol

Entre os anestésicos naturais produzidos no Brasil, encontramos o eugenol e o mentol (GONÇALVES et al., 2008).

O mentol é um óleo essencial extraído de plantas do gênero *Mentha* (MARTINS et al., 2000; SIMÕES e GOMES, 2009), que dá às plantas o cheiro e o sabor característico (GALEOTTI et al., 2002). Dentre as várias espécies dessas plantas que contêm o mentol, estão a hortelã-pimenta, *Mentha piperita*, (GALEOTTI et al., 2002) e a hortelã, *Mentha arvensis* L., (MATOS, 2000). Possui propriedades anestésicas, antiespasmódicas, anti-inflamatórias,

antiúlceras e antivirais, sendo de grande importância econômica na indústria farmacêutica (LORENZO et al., 2002) e também na alimentícia e de cosméticos (SIMÕES e GOMES, 2009).

O mentol tem várias características que o qualificam como um anestésico adequado para peixes: eficácia e boa margem de segurança para o peixe (GONÇALVES et al., 2008) e para o operador na concentração utilizada (ROUBACH e GOMES, 2001). Este anestésico também é utilizado em farmácias de manipulação, sendo facilmente encontrado no mercado local a baixo custo (FAÇANHA e GOMES, 2005).

Embora o mentol seja procedente de uma planta medicinal, ainda não se sabe sobre a existência de resíduos na carcaça ou de alteração do sabor, bem como sobre as alterações fisiológicas nos peixes decorrentes do uso deste produto (GONÇALVES et al., 2008). Sendo assim, para o mentol ser aprovado como anestésico para uso pelas autoridades competentes, é necessário conhecer o tempo residual desta substância no tecido do peixe (FAÇANHA e GOMES, 2005).

3.3 Características das espécies

3.3.1 Tilápia-do-nilo da linhagem chitralada

A tilápia-do-nilo, *Oreochromis niloticus*, (Linnaeus, 1758), pertence à Classe Osteichthyes, Ordem Perciformes e Família Cichlidae (NAKATANI, 2001). É a espécie mais cultivada no Brasil e está entre as mais importantes na piscicultura mundial (FAO, 2007), especialmente devido a algumas características como: a alta taxa de crescimento, a rusticidade, o hábito alimentar onívoro, pela facilidade de obtenção de larvas (FURUYA et al., 2004), a fácil aceitação de ração e a grande resistência às doenças, além de serem tolerantes à baixa concentração de oxigênio na água (SIMÕES e GOMES, 2009), uma vez que suportam valores inferiores a 1,0 mg/L (EL-SAYED ALI et al., 2003). Além disso, a tilápia possui carne de ótima qualidade a boa aceitação pelo mercado consumidor (BORGES et al., 2005).

As tilápias spp., tornam-se sexualmente maduras em poucos meses, e reproduzem o ano todo (WOYNAROVICH e HORVÁTH, 1989). De acordo com

NAKATANI (2001), a desova da tilápia nilótica é parcelada e elas não realizam migrações reprodutivas. Segundo este mesmo autor, esta espécie de peixe constrói ninhos junto ao sedimento para depositar seus ovos, incubando-os na boca.

A tilápia-do-nilo da linhagem Chitralada, mais conhecida como Tailandesa, foi desenvolvida no Japão e melhorada no Palácio Real de Chitralada, na Tailândia (ZIMMERMANN, 2000). Foi introduzida oficialmente no Brasil no ano de 1996, com 20.800 exemplares importados do Agricultural and Aquatic Systems, do Asian Institute of Technology (AIT), com sede na Tailândia (ZIMMERMANN, 1999).

A tilápia-do-nilo, *Oreochromis niloticus*, linhagem chitralada, é a mais utilizada na produção comercial (KUBITZA, 2000). Essa variedade destaca-se por apresentar desempenho de crescimento superior em relação às outras espécies de tilápia (ZIMMERMANN, 2000).

A tilápia-do-nilo é uma espécie que apresenta espinhos ósseos nas nadadeiras, que freqüentemente provocam machucados nos técnicos. Dessa forma, o uso de anestésicos nesta espécie ajuda não somente reduzir o estresse do animal durante o manejo, mas também aumenta a segurança dos operadores durante práticas de rotina em pisciculturas (VIDAL et al., 2008).

3.3.2 Matrinxã

O Matrinxã, *Brycon cephalus*, (Gunther, 1869), pertence à ordem Characiformes, família Characidae e subfamília Bryconinae (NAKATANI, 2001). É uma espécie de peixe originária da bacia Amazônica que desperta grande interesse em pesquisadores, piscicultores, pesque-pague e agroindústria de pescado de todo o Brasil (PIZANGO-PAIMA, 2001; IZEL e MELO, 2003).

O matrinxã é uma espécie migratória, ou de piracema, e sua reprodução em ambiente natural ocorre no início do período da enchente, entre dezembro e fevereiro (ZANIBONI e REZENDE, 1988). De acordo com NAKATANI (2001), o período reprodutivo dessa espécie estende-se de dezembro a janeiro. O matrinxã possui hábito alimentar herbívoro ou onívoro (NAKATANI, 2001), alimentando-se na natureza basicamente de sementes e frutos na época da cheia e de insetos, pequenos peixes, moluscos e crustáceos na época da seca

(GOULDING, 1980). Em condições de cultivo, essa espécie aceita rações artificiais, bem como subprodutos agroindustriais (GRAEF et al., 1987).

A crescente procura por essa espécie para criação em ambientes controlados se deve, principalmente, à sua fácil adaptação ao cativeiro, aceitação de alimentos tanto de origem vegetal quanto animal, seu rápido crescimento e elevado valor comercial (PIZANGO-PAIMA, 1997; IZEL, 2000; SOARES, 2000; CARNEIRO e URBINATE, 2001; PIZANGO-PAIMA, 2001).

O matrinxã movimenta-se em excesso durante o manejo e transporte, o que pode causar ferimentos e perdas de escamas, e, conseqüentemente, resultar na manifestação de doenças provocadas por microrganismos e/ou a morte (KUBITZA, 2003; INOUE et al., 2004; BARBOSA et al., 2007). Além do mais, os movimentos bruscos dos animais também podem colocar em risco a segurança dos trabalhadores, principalmente ao manusearem equipamentos como, por exemplo, bisturis, agulhas e balanças eletrônicas. Esse risco aumenta quando os peixes são de grande porte (BARBOSA et al., 2007).

3.3.3 Pacu

O pacu, *Piaractus mesopotamicus*, (Holmberg, 1887), pertence à ordem Characiformes e à subfamília Myleinae, e é originário da Bacia do Prata (NAKATANI, 2001). É uma espécie considerada de grande potencial para a piscicultura, principalmente na região Centro-Oeste e Sudeste do Brasil, pela excelência de sua carne e importância na pesca comercial em suas regiões de origem, além de seu potencial zootécnico e rusticidade (QUEIROZ et al., 2005). Também é uma espécie importante para a aqüicultura por apresentar hábito alimentar onívoro e por ter boa aceitação pelo consumidor (URBINATI e GONSALVES, 2005). Segundo VIEGAS et al. (2008), o pacu também uma espécie muito utilizada para pesca esportiva no Brasil. Recebe nomes diferentes de região para região, como caranha, pacu-caranha ou pacu-guaçu (REIS NETO, 2007). É um peixe de grande porte, com o corpo robusto e arredondado e apresenta o dorso cinza-escuro e o ventre amarelo-dourado (VAZ et al., 2000).

O pacu é um peixe reofilico que, em ambiente natural, realiza migrações reprodutivas, as quais culminam com a desova (BOCK e PADOVANI, 2000).

Seu período reprodutivo se estende de novembro a janeiro (NAKATANI, 2001). No entanto, segundo REIS NETO (2007), este período varia de outubro a março. Quando em ambiente confinado, o pacu apresenta bloqueios no seu ciclo gonodal e só reproduz artificialmente, isto é, através de indução hormonal (LIMA et al., 1991), a fim de liberar os gametas (CASTAGNOLLI, 1981).

4. MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi realizado no Laboratório da piscicultura do Dr. João Batista Teixeira, localizado na zona rural do município de Viçosa, Minas Gerais em junho de 2009. Foram utilizados peixes reprodutores de pacu ($2,73 \pm 0,51$ kg e $46,44 \pm 3,26$ cm), matrinxã ($1,38 \pm 0,11$ Kg e $41,07 \pm 1,14$ cm) e tilápia tailandesa ($0,122 \pm 0,04$ Kg e $16,66 \pm 1,63$ cm), oriundos desta piscicultura.

Vinte e quatro horas antes do início do experimento, o arraçoamento foi suspenso. A despesca dos peixes foi realizada às 9h da manhã. Os pacus e os matrinxãs foram capturados dos tanques de terra com rede de arrasto em malha grossa de 5 cm. Já as tilápias foram capturadas com tarrafa, pois são animais menores e de fácil captura. Após captura, os peixes foram transportados através de baldes com capacidade para 60 L de água para o laboratório da piscicultura e acondicionados em tanques de alvenaria com capacidade para 300 L, com fluxo constante de água corrente.

Foram utilizados 12 peixes para cada tratamento dos anestésicos, sendo três animais para cada concentração. Os anestésicos testados foram o óleo de cravo, benzocaína e mentol. Para todos os tratamentos, utilizou-se as seguintes concentrações em mg/L: 100, 150, 200, 250. Matrinxãs reprodutores são peixes pouco encontrados na região, portanto, não foi possível completar o número necessário de exemplares para realizar os testes com as concentrações de 200 e 250 mg/L de eugenol.

Os três anestésicos foram previamente diluídos em etanol na concentração de 1g/ 10 mL, devido às suas características hidrofóbicas (INOUE et al., 2003), na proporção 1:9. A solução mãe do mentol e da benzocaína foram adquiridas por uma farmácia de manipulação, e o óleo de cravo foi comprado por um fornecedor e sua solução mãe foi preparada no laboratório da ranicultura da UFV.

Para calcular o volume inicial para cada concentração avaliada, foi utilizada a equação $C_1V_1 = C_2V_2$. C_1 e V_1 são, respectivamente, a concentração e o volume iniciais, e C_2 e V_2 respectivamente iguais a concentração e o volume finais. O V_2 utilizado foi igual 30 L. Os volumes iniciais encontrados foram 30

mL, 45 mL, 60 mL e 75 mL, respectivamente para as concentrações 100 mg/L, 150 mg/L, 200 mg/L e 250 mg/L.

Para cada anestésico testado, utilizou-se uma caixa de isopor, previamente reforçada com fita adesiva, com capacidade para 80 L. O isopor é um isolante térmico, e o intuito foi manter a temperatura da água constante para evitar que esta não comprometesse a eficácia do anestésico, interferindo nos resultados. Para o teste, cada concentração da solução anestésica a ser testada foi colocada na caixa de isopor, após, foi adicionada água até completar 30 L. Após cada teste, as caixas foram lavadas com água corrente para evitar a contaminação das dosagens.

As temperaturas da água do tanque onde os peixes foram acondicionados antes dos testes, da caixa de indução e a do tanque de recuperação da anestesia foram aferidas com termômetro digital a laser.

Para manusear os peixes, foram utilizadas luvas cirúrgicas, toucas e máscaras para proteger o operador. Um animal por vez foi retirado cuidadosamente do tanque de alvenaria com um puçá, e acondicionado dentro da caixa de isopor contendo a concentração anestésica a ser testada. Após, seguiu-se o mesmo parâmetro de indução à anestesia adotado por VIDAL et al. (2007a), sendo este a ausência de movimentos dos peixes nas caixas (Figura 1). O tempo de indução à anestesia foi monitorado através de um cronômetro digital, sendo quantificado assim que cada peixe foi imerso dentro da solução anestésica a ser testada, até a perda total de seu movimento dentro da caixa de isopor.



FIGURA 1. Exemplar de Pacu (*Piaractus mesopotamicus*) imerso em solução anestésica.

Depois de observada a indução à anestesia, o peixe foi retirado da caixa de isopor, e colocado sobre uma bancada com panos úmidos. A seguir, a resposta comportamental do animal sob efeito anestésico foi observada, e o seu estágio de anestesia atingido estabelecido, seguindo-se a metodologia proposta por VIDAL et al. (2008) modificado de ROSS e ROSS (2008), descrito na Tabela 1. Em seguida, foi realizada a marcação do animal em uma das nadadeiras pélvicas ou na caudal, com miçangas de diferentes cores, arramadas com nylon. Posteriormente, foi feita a biometria do peixe, simulando um manejo de rotina em piscicultura. Para quantificar o peso (g), o peixe foi colocado em uma sacola plástica, a qual foi pendurada em uma balança portátil eletrônica com capacidade para 50 kg e precisão de 20 g (Figura 3), e o comprimento padrão (cm) foi medido com uma trena de 2 m (Figura 2). Após, o peixe foi transportado com as mãos para um tanque de alvenaria com capacidade para 300 L, com renovação contínua de água com vazão de 18 L/mim, para observação e contagem do tempo de recuperação utilizando um cronômetro digital. O parâmetro comportamental indicativo ao retorno do peixe à anestesia foi adaptado de acordo com HIKASA et al. (1986) (Tabela 2).



FIGURA 2. Medida do comprimento padrão (cm) de um exemplar de pacu (*Piaractus mesopotamicus*), com o uso de uma trena.



FIGURA 3. Determinação de peso de um exemplar de pacu (*Piaractus mesopotamicus*).

Após a recuperação, os peixes foram capturados com um puçá, colocados em baldes com capacidade para 60 L de água e transportados de volta aos tanques de origem. Nos tanques de terra foi observado o tempo de

retorno à alimentação dos animais, e a ocorrência da mortalidade por um período de 72 horas.

Os testes foram registrados por máquina fotográfica digital.

Análise estatística

O experimento foi disposto segundo o esquema de parcelas subdivididas, tendo nas parcelas as concentrações e nas subparcelas o tempo de avaliação no delineamento inteiramente casualizado com três repetições.

Os dados foram analisados por meio de análise de variância e regressão. Para o fator qualitativo (anestésico) as médias foram comparadas utilizando-se o teste de TUKEY, adotando-se o nível de 10% ($p < 0,01$) 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% ($p < 0,05$) de probabilidade, no coeficiente de determinação ($R^2 = \text{S. Q. regressão} / \text{S. Q. Tratamento}$) e no fenômeno biológico.

TABELA 1. 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	Narcorese	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.

*VIDAL et al. (2008), modificado de Ross & Ross (2008).

TABELA 2. Estágios de recuperação anestésica

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 a estímulos externos ainda vacilantes
V	Total recuperação do equilíbrio e capacidade normal de nado

*Modificado de Hikasa et al. (1986).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Todos os pacus, matrinxãs e tilápias tailandesas, para os três anestésicos testados, em todas as concentrações avaliadas, ao serem acondicionados nas caixas de isopor contendo os fármacos e suas respectivas concentrações, inicialmente ficaram hiperativos. Devido a essa hiperatividade, assim que os peixes foram acondicionados nas caixas, estas foram imediatamente fechadas para evitar o desperdício das concentrações anestésicas. Após a tranquilização dos animais, as tampas das caixas foram retiradas, para posterior observação do comportamento, o qual foi evidenciado pela perda dos movimentos das nadadeiras até que os peixes ficassem sem equilíbrio, posicionando-se para um lado. Devido à necessidade de fechar as caixas logo que os peixes foram acondicionados para serem induzidos à anestesia, os movimentos operculares destes animais não foram observados nesta etapa. VIDAL et al. (2007a) e VIDAL et al. (2008) ao estudarem, respectivamente, juvenis de matrinxã com $3,31 \pm 0,57$ g e juvenis de tilápia-do-nilo, com peso médio de 5,34 g, também observaram essa hiperatividade utilizando o eugenol como anestésico. Segundo Collins (1978), essa hiperatividade é o primeiro comportamento observado em um animal submetido à anestesia geral.

Em todos os peixes testados, para todas as concentrações anestésicas avaliadas, após serem anestesiados e aplicados os procedimentos de biometria e marcação, observou-se que quando acondicionados no tanque de recuperação, todos os animais primeiramente normalizaram os movimentos operculares, e aos poucos começaram a movimentar as nadadeiras até recuperarem totalmente o equilíbrio e a capacidade de nado.

Os pacus e os matrinxãs, por se tratar de animais de grande porte, são animais que movimentam bruscamente o corpo e suas nadadeiras durante o manejo, sendo necessário mais de um operador para manuseá-los durante este procedimento. A agitação desses animais pode machucar os operadores e comprometer o trabalho dos manipuladores, além de aumentar o tempo de exposição em que os peixes ficam fora de seu ambiente. Depois de submetidos aos tratamentos com o mentol, óleo de cravo e benzocaína, apenas um operador foi necessário para manejar os pacus e os matrinxãs, os quais,

durante a biometria e marcação, ficaram estáticos, sem reação alguma que pudesse interferir no trabalho do manipulador. Isto evidencia que os três anestésicos testados mostraram segurança para o operador durante os procedimentos rotineiros em piscicultura, uma vez que não ocorreu nenhum acidente, além de diminuir o tempo que o animal ficou fora de seu ambiente.

As tilápias manuseadas sem tratamento anestésico, durante o manejo eriçam suas nadadeiras e ficam hiperativas, e mesmo sendo de pequeno porte, os raios contidos em suas nadadeiras podem ferir os operadores. Durante os procedimentos executados, esses peixes, após serem anestesiados, foram facilmente manejados, evidenciando que o mentol, o óleo de cravo e a benzocaína apresentaram segurança para o operador.

O mentol, a benzocaína e o óleo de cravo apresentaram-se seguros para os pacus, matrinxãs e as tilápias tailandesas, pois durante o manejo esses animais não correram o risco de quedas, perdas de escamas devido a movimentos excessivos do corpo, e nenhuma morte.

A figura 4 mostra o acondicionamento de um exemplar de pacu (*Piaractus mesopotamicus*), no tanque de recuperação da anestesia. As figuras 5 e 6, mostram, respectivamente, um exemplar de tilápia-do-nilo tailandesa (*Oreochromis niloticus*) e um exemplar de matrinxã (*Brycon cephalus*), acondicionados no tanque de recuperação da anestesia.

Não foi observada nenhuma mortalidade de pacus, matrinxãs e tilápias tailandesas durante e 72 h após o teste de indução à anestesia.

O retorno à alimentação de todos os peixes, das três espécies avaliadas, ocorreu normalmente dois dias após o término do experimento.



FIGURA 4. Acondicionamento de um exemplar de pacu (*Piaractus mesopotamicus*), no tanque de recuperação da anestesia.



FIGURA 5. Exemplar de tilápia-do-nilo tailandesa (*Oreochromis niloticus*), acondicionado no tanque de recuperação da anestesia.



FIGURA 6. Exemplar de matrinxã (*Brycon cephalus*) no tanque de recuperação da anestesia.

5.1 Pacu

As temperaturas médias (em °C) da água do tanque onde os pacus foram acondicionados antes da anestesia, da caixa de indução e a do tanque de recuperação da anestesia foram, em média, $18,13 \pm 1,95$; $18,11 \pm 0,97$ e $17,54 \pm 1,93$, respectivamente.

As concentrações de 100 e 150 mg/L de óleo de cravo, e todas as dosagens do mentol e da benzocaína testadas, induziram os pacus à anestesia profunda. Todos os animais que atingiram o estágio de anestesia profunda perderam totalmente o equilíbrio e apresentaram movimento opercular lento e regular durante a biometria.

Nas concentrações de 200 e 250 mg/L de óleo de cravo, os peixes atingiram o estágio de anestesia cirúrgica. Todos os animais que atingiram esse estágio, durante a biometria não apresentaram movimento opercular.

GONÇALVES et al. (2008), testando o mentol como anestésico para juvenis de pacu, observaram que as concentrações avaliadas (50, 100, 150 e 200 mg/L) levaram os peixes à anestesia profunda. Estes mesmos autores

observaram que o eugenol nas concentrações de 25, 50 e 100 mg/L também induziu os animais à anestesia profunda. GIMBO et al. (2008) observaram que as concentrações de 100 e 125 mg/L de benzocaína induziram o lambari-do-rabo-amarelo, *Astyanax altiparanae*, (peso médio de $3,5 \pm 1,7$ g e comprimento total médio de $6,0 \pm 1,0$ cm), ao estágio de anestesia profunda.

A Tabela 3 apresenta os valores do tempo de indução e do tempo de recuperação para os anestésicos e as concentrações. Verifica-se que para o tempo de indução, somente os anestésicos não apresentaram significância. Todas as fontes de variação tiveram efeito significativo para o tempo de recuperação.

TABELA 3. Resumo da análise de variância do tempo de indução (TI) e Tempo de Recuperação (TR), ambos em segundos, dos Anestésicos (AN), das Concentrações (C), para o pacu (*Piaractus mesopotamicus*)

F.V	GL	QUADRADOS MÉDIOS	
		TI	TR
AN	2	8456,58 ^{NS}	1888612,00 ^{**}
Resíduo (a)	6	8266,38	79273,64
C	3	16898,92 ^{**}	897745,30 ^{**}
AN x C	6	9979,25 [*]	579893,10 ^{**}
Resíduo (b)	18	2922,72	59226,79
C.V. (%) Parcela		45,59	68,47
C.V. (%) Subparcela		27,10	59,18

** F significativo ao nível de 1% de probabilidade.

* F significativo ao nível de 5% de probabilidade.

NS. F não F significativo ao nível de 5% de probabilidade.

Na tabela 4 encontram-se as médias das variáveis tempos de indução (TI) e de recuperação (TR) para as concentrações (C) e tipo de anestésicos (AN).

TABELA 4. Valores médios dos tempos de indução e de recuperação em segundos, para as respectivas combinações de anestésicos e concentrações, observados nos testes com pacu (*Piaractus mesopotamicus*)

C	TI			TR		
	AN1	AN2	AN3	AN1	AN2	AN3
100	220ab	260a	140b	180a	100a	280a
150	200a	220a	240a	180a	140a	460a
200	300a	180b	223ab	140.3b	160b	660.3a
250	198.6a	60.0b	51.3ab	197b	360b	2076.3a

As médias com pelo menos uma mesma letra na linha para cada variável não diferem entre si ao nível de 10% de probabilidade pelo teste de TUKEY;
 TI = tempo de indução (s); TR = tempo de recuperação (s); C= concentração em mg/L; AN1= Mentol; AN2= Benzocaína; AN3= Eugenol.

Na concentração de 100 mg/L, o Tempo de Indução (TI) médio dos pacus anestesiados com eugenol (AN3) apresentou redução significativa em relação ao TI médio dos pacus tratados com a benzocaína (AN2). O mesmo foi encontrado por WALSH e PEASE (2002), avaliando o óleo de cravo como anestésico para enguia (*Anguilla reinhardtii*), com tamanhos de 433-1065 mm, ao compararem o tempo médio de indução dos animais expostos ao óleo de cravo e à benzocaína. Estes autores observaram que na concentração de 60 mg/L, a 25°C, e salinidade de 18 g/L, o tempo de indução para o óleo de cravo foi significativamente menor do que o tempo de indução para a benzocaína. Nesta mesma concentração, o mentol (AN1) não se diferiu estatisticamente do AN2 e do AN3.

As respostas obtidas para o Tempo de Recuperação (TR), dos pacus anestesiados com AN1, AN2 e AN3, na concentração de 100 mg/L, não apresentaram diferenças significativas. Por outro lado, GONÇALVES et al., 2008, avaliando a eficiência do mentol, do eugenol e da benzocaína na indução à anestesia de juvenis de pacu, observaram que ocorreu diferença estatística no tempo de recuperação entre as concentrações de 100 mg/L de benzocaína e de eugenol. No entanto, para esta mesma concentração, não observaram diferença significativa para a mesma variável, entre o mentol e a benzocaína.

Na concentração de 150 mg/L, tanto o TI quanto o TR dos pacus anestesiados com AN1, AN2 e AN3 não foram diferentes estatisticamente.

Para a concentração de 200 mg/L, o TI dos pacus tratados com AN1 apresentou um aumento significativo em relação ao TI dos peixes anestesiados com AN2. O TI dos animais anestesiados com AN3 não se diferiu estatisticamente dos que foram tratados com AN1 e AN2. Nessa mesma concentração, o TR dos pacus anestesiados com AN3 apresentou aumento significativo em relação ao TR dos animais tratados com AN1 e AN2. No entanto, o TR dos peixes tratados com AN1 não foi diferente estatisticamente do TR dos que foram tratados com AN2.

Para a concentração de 250 mg/L o TI dos peixes anestesiados com AN2 apresentou redução significativa em relação ao TI dos pacus anestesiados com o AN1. O TI dos animais tratados com AN3 não diferiu estatisticamente do TI dos que foram anestesiados com o AN1 e o AN2. O TR dos peixes anestesiados com o AN3, na dosagem de 250 mg/L, foi significativamente maior do que o TR dos pacus tratados com AN1 e AN2. Nessa mesma dosagem o TR do AN1 e do AN2 não se diferiram estatisticamente.

O aumento significativo do TR dos pacus anestesiados com 200 e 250 mg/L de AN3 em relação ao TR dos animais tratados com AN1 e AN2, observado na tabela 4, corroboram com os resultados encontrados por MUNDAY e WILSON (1997), que, ao compararem o efeito do óleo de cravo e outros anestésicos em peixe coral reef (*Pomacentrus amboinensis*), observaram um tempo médio de recuperação duas a três vezes mais prolongado do óleo de cravo em relação aos anestésicos MS-222, benzocaína, quinaldina e 2-fenoxietanol. KING et al. (2005) afirmaram que as doses mais elevadas de óleo de cravo são associadas com o tempo de recuperação

prolongado e um aumento do risco de mortalidade. Nessa mesma tabela, as dosagens de 100 e 150 mg/L, mesmo não havendo diferença estatística do AN3 em relação ao AN1 e o AN2, observa-se que há um aumento do TR do eugenol comparado aos outros anestésicos. A recuperação pode ser prolongada devido à natureza persistente do óleo de cravo na superfície das brânquias, aumentando efetivamente o tempo de exposição (SLADKY et al. 2001).

Na tabela 5 encontram-se as equações de regressão ajustadas das variáveis TI e TR em função das concentrações para os respectivos anestésicos.

TABELA 5. Equações de regressão ajustadas das variáveis Tempos de Indução (TI) e de recuperação (TR) em função das concentrações (C) dos respectivos anestésicos e os coeficientes de determinação para o pacu (*Piaractus mesopotamicus*)

ANESTÉSICOS	VARIÁVEL	EQUAÇÕES AJUSTADAS	R ²
AN1	TI	$\hat{Y} = 229,6$	-
AN2	TI	$\hat{Y} = 404,0 - 1,28C$	0,9142
AN3	TI	$\hat{Y} = -1695,06 + 298,75\sqrt{C} - 11,515C$	0,9960
AN1	TR	$\hat{Y} = 147,33$	-
AN2	TR	$\hat{Y} = 350 - 4C + 0,016C^2$	0,9505
AN3	TR	$\hat{Y} = 2311,9 - 32,081C + 0,1236C^2$	0,9645

AN1 = MENTOL; AN2= BENZOCAÍNA; AN3 = EUGENOL; TI (tempo de indução em segundos); TR (tempo de recuperação em segundos).

O tempo de indução (TI) dos pacus anestesiados com mentol (AN1) foi constante. Nessa situação, independente da concentração utilizada, o valor de TI foi igual à média, ou seja, 229,6 segundos. Igualmente ao TI, o tempo de

recuperação (TR) dos peixes anestesiados com AN1, também foi uma constante, e seu valor é igual à média, 147,33 segundos (2,4 minutos).

Como as quatro concentrações de mentol avaliadas apresentaram a mesma eficiência para anestésiar os pacus, ou seja, todos os animais atingiram o mesmo estágio anestésico, e, uma vez que não houve diferença para o TI e o TR dentre essas dosagens testadas, 100 mg/L de mentol é a melhor para anestésiar pacu com $2,73 \pm 0,51$ kg. Esta concentração além de ser a mais segura para animal, é a mais rentável para o piscicultor ou produtor, em termos lucrativos.

GONÇALVES et al. (2008), observaram que as concentrações 50, 100, 150 e 200 mg/L de mentol levaram juvenis de pacu ($110,5 \pm 21,6$ g) à anestesia profunda, e também concluíram que 100 mg/ L é a concentração ideal para anestésiar esses animais.

O TI dos animais anestesiados com a benzocaína (AN2), apresentou um comportamento linear decrescente (Figura 7). A cada acréscimo de 1mg/L do anestésico, o TI reduziu 1,28 segundos. Os tempos de indução encontrados, através da equação de regressão ajustada, para as concentrações de 100, 150, 200 e 250 mg/L foram, respectivamente, 276 s; 212 s; 148 s e 84 s. O tempo de indução foi inversamente proporcional ao aumento da concentração. Neste caso, a eficácia da benzocaína aumentou com a elevação da concentração. O decréscimo do tempo de indução à medida que a concentração de benzocaína aumentou, também foi encontrado por GIMBO et al. (2008), ao avaliarem a indução à anestesia profunda em lambari-do-rabo-amarelo (*Astyanax altiparanae*), com $3,5 \pm 1,7$ g. INOUE et al. (2002) encontrou o mesmo comportamento para o TI, ao avaliarem a benzocaína em juvenis de matrinxã (*Brycon cephalus*) com peso médio de 112 g.

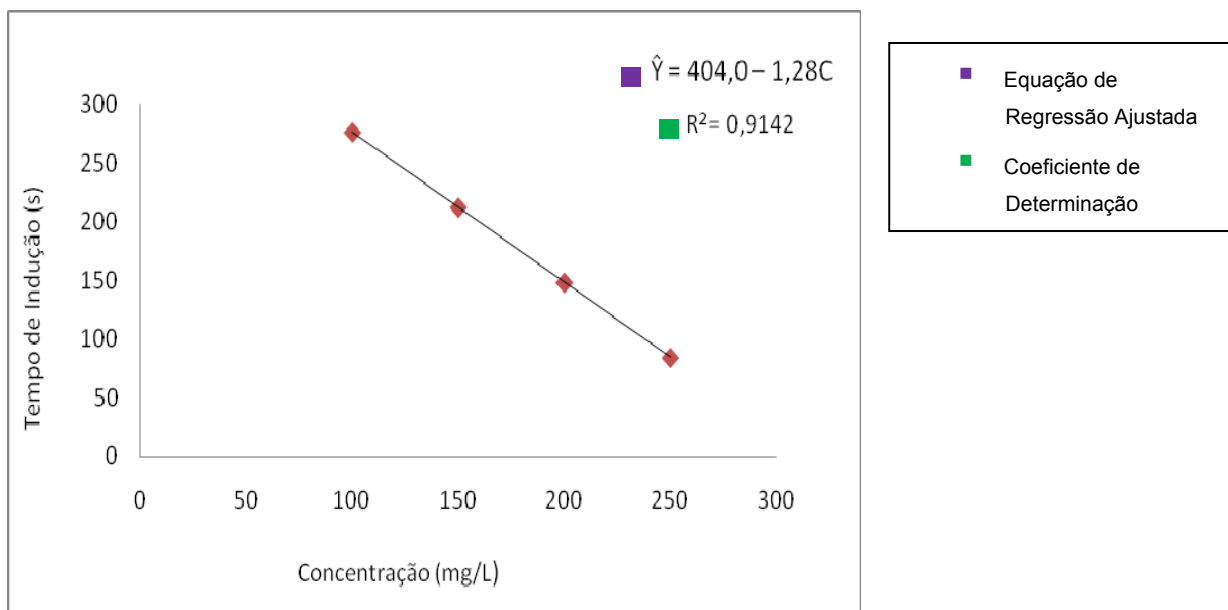


FIGURA 7. Tempo de indução de pacus (*Piaractus mesopotamicus*) submetidos a diferentes concentrações de benzocaína.

O TR dos pacus anestesiados com benzocaína apresentou um comportamento quadrático (Figura 8). Para a concentração igual a 125 mg/L, o tempo mínimo de recuperação encontrado, através da equação de regressão ajustada, foi de 100 segundos. Os tempos de recuperação encontrados, através da equação de regressão ajustada, foram 110 s (para 100 e 150 mg/L), 190 s (para 200 mg/L) e 350 s (para 250 mg/L). Mesmo nas maiores dosagens (200 e 250 mg/L) de benzocaína, em que os pacus levaram maior tempo para se recuperarem, não ocorreu nenhuma complicação para estes animais. Os animais recuperados estavam visualmente saudáveis, sem nenhum sinal de injúria pelo corpo ou nadadeiras.

Como a recuperação prolongada de peixes submetidos à anestesia pode lhes trazer conseqüências ou danos fisiológicos, é desejável que esses animais se recuperem mais rapidamente. Os pacus anestesiados com 100 e 150 mg/L de benzocaína apresentaram o menor tempo de recuperação, sendo portanto mais seguro para esses peixes a utilização de 100 mg/L deste fármaco. Além disso, esta dosagem possui custo mais baixo para o piscicultor ou produtor.

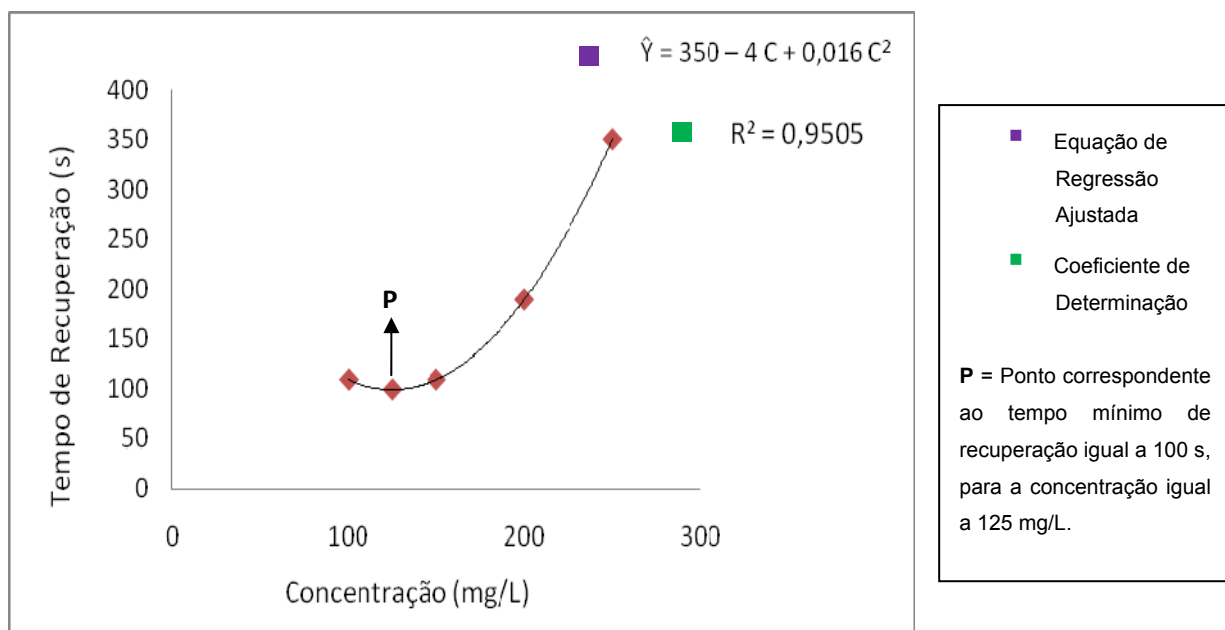


FIGURA 8. Tempo de recuperação de pacus (*Piaractus mesopotamicus*) submetidos a diferentes concentrações de benzocaína.

Na Figura 9, observa-se que o TI dos animais anestesiados com óleo de cravo (AN3), demonstrou um comportamento raiz quadrada. Encontrou-se a concentração de 168,22 mg/L correspondente ao tempo máximo de indução igual a 242,66 segundos. Os tempos de indução encontrados através da equação de regressão ajustada, para as concentrações (100, 150, 200 250 mg/L) foram, 140,9 s; 236,6 s; 226,9 s e 149,8 s, respectivamente. O aumento das concentrações do óleo de cravo, não influenciou os tempos de indução dos pacus submetidos à anestesia com esse fármaco.

Segundo HISANO et al. (2008), as menores dosagens de óleo de cravo tendem a aumentar o tempo de indução. CUNHA e ROSA (2006), analisando o óleo de cravo em sete espécies de peixes tropicais, do mesmo modo, notaram que o tempo de indução para a menor concentração testada (20 mg/L) foi o maior (127,33 s).

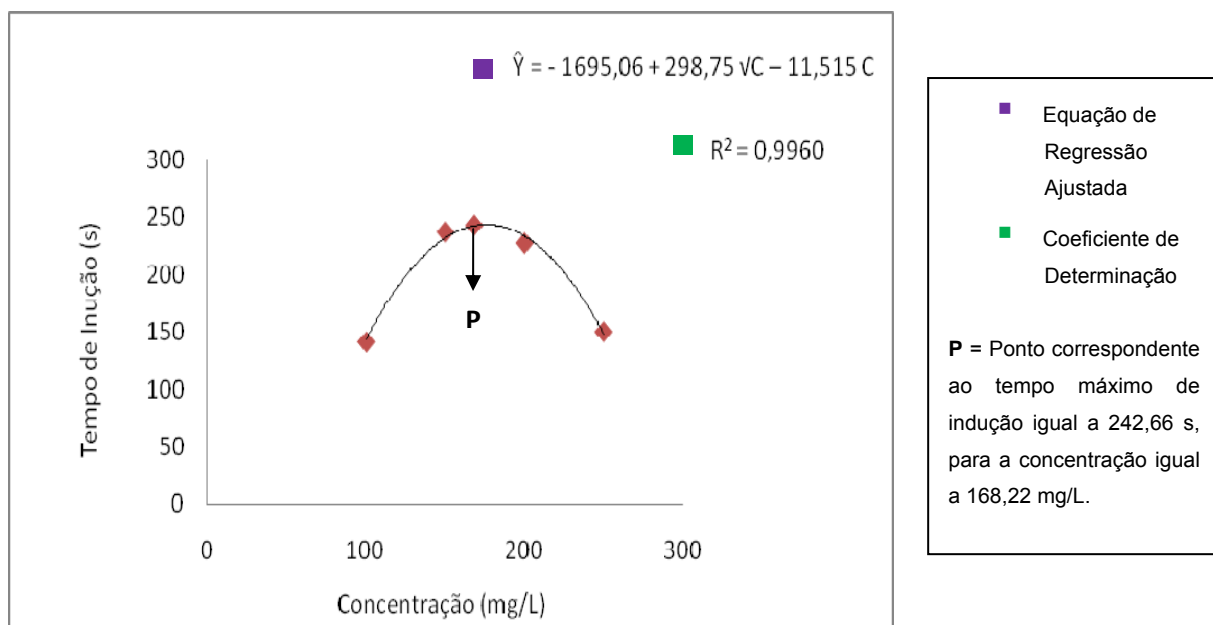


FIGURA 9. Tempo de indução de pacus (*Piaractus mesopotamicus*) submetidos a diferentes concentrações de óleo de cravo.

O TR dos pacus anestesiados com óleo de cravo apresentou um comportamento quadrático (Figura 10). A concentração de 129,7 mg/L, está relacionada ao TR mínimo igual a 230,20 segundos. Os pacus anestesiados com 200 e 250 mg/L de óleo de cravo apresentaram tempos de recuperação prolongados (839,7 s e 2016,6 s, respectivamente) em relação aos tempos de recuperação das concentrações de 100 e 150 mg/L (339,8 s e 280,7 s, respectivamente).

SLADKY et al. (2001) observaram que pacus, (*Piaractus brachypomus*), com 603.3 ± 61 g, submetidos à anestesia com eugenol nas concentrações de 100 e 200mg/L, apresentaram tempo de recuperação acima de 10 minutos e alguns foram reanimados com auxílio de oxigenação extra próximo da cavidade opercular. Segundo este mesmo autor, a recuperação pode ser prolongada devido à natureza persistente do óleo de cravo na superfície das brânquias, aumentando efetivamente o tempo de exposição. Neste trabalho, os animais submetidos às concentrações de 200 e 250 mg/L recuperam sem nenhum auxílio. Portanto, nessas dosagens, onde a concentração do óleo de cravo foi maior, provavelmente este pode ter se aderido por mais tempo na superfície

das brânquias, aumentando também o tempo de exposição e prolongando a recuperação dos pacus.

GONÇALVES et al. (2008), estudando juvenis de pacu com $110,5 \pm 21,6$ g, também observaram um tempo de recuperação prolongado nas concentrações mais elevadas de eugenol.

VIDAL et al. (2006) avaliou o eugenol como anestésico para juvenis de pintado (*Pseudoplatystoma corruscans*) com $27,76 \pm 7,7$ g, e observaram que os tratamentos de 50, 75 e 100 mg/L levaram os animais ao estágio de anestesia profunda. Estes autores relataram que o tempo de recuperação dos animais anestesiados com de 75 e 100 mg/L, foi maior do que 10 minutos.

Como as dosagens de 100 e 150 mg/L de óleo de cravo apresentaram a mesma eficiência, pois induziram os pacus ao mesmo estágio anestésico (anestesia profunda), 100 mg/L apresentou maior segurança para o animal. Para as concentrações de 200 e 250 mg/L deste fármaco, que levaram os pacus ao estágio de anestesia cirúrgica, a melhor e mais segura foi a de 200 mg/L, uma vez que 250 mg/L obteve tempo de recuperação bem prolongado. Para o piscicultor ou produtor, é mais vantajoso utilizar 100 e 200 mg/L de óleo de cravo, para induzir o pacu na faixa de peso estudada aos referidos estágios.

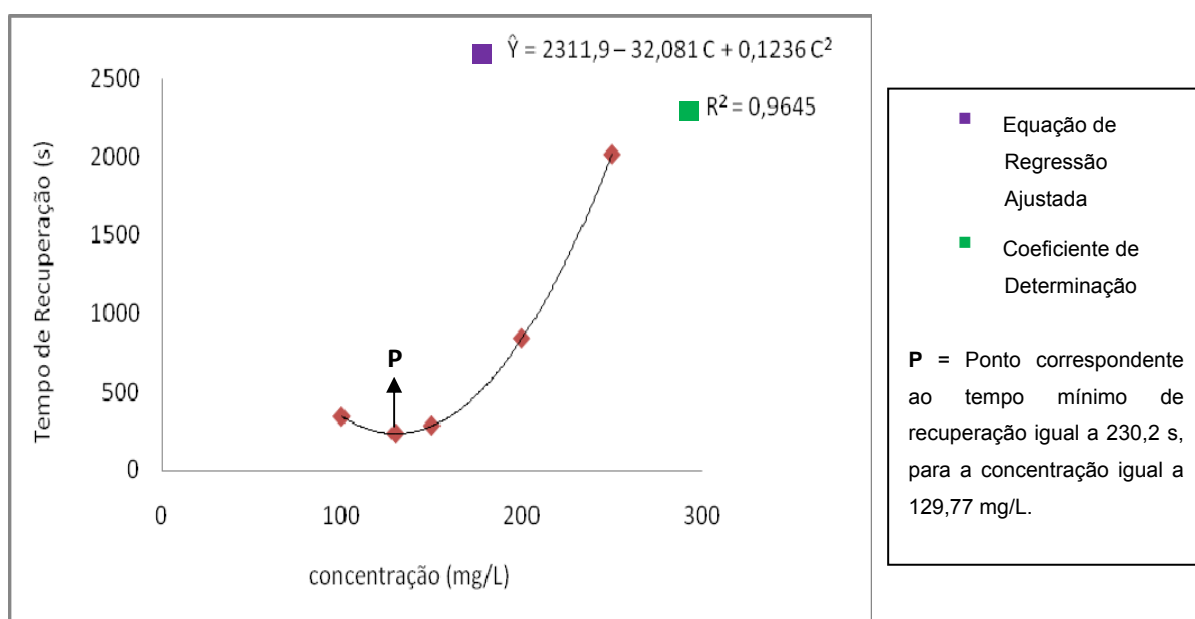


FIGURA 10. Tempo de recuperação de pacus (*Piaractus mesopotamicus*) submetidos a diferentes concentrações de óleo de cravo.

O mentol, a benzocaína e o óleo de cravo são anestésicos que podem ser aplicados durante o manejo da reprodução induzida em pacu. E, estes fármacos podem ainda, em doses menores, ser utilizados para o transporte destes animais, dos tanques onde ficam alocados para o laboratório onde será feito esse procedimento.

5.2 Tilápia-do-nilo da linhagem chitralada

As temperaturas médias da água do tanque onde as tilápias foram acondicionadas antes da anestesia, da caixa de indução à anestesia e a do tanque de recuperação foram, em média, $17,46 \pm 2,31$ °C; $20,46 \pm 2,32$ °C e $16,49 \pm 0,57$ °C, respectivamente.

As concentrações de 100 e 150 mg/L do mentol induziram as tilápias à anestesia profunda, e as dosagens de 200 e 250 mg/L deste anestésico induziram os animais à anestesia cirúrgica. Todas as concentrações testadas de benzocaína induziram os peixes à anestesia cirúrgica. Todas as tilápias testadas com óleo de cravo, em todas as concentrações, atingiram o estágio de anestesia profunda.

Todas as tilápias que chegaram ao estágio de anestesia profunda movimentaram o opérculo regular e lentamente, durante a biometria.

Durante a biometria, as tilápias testadas com 200 e 250 mg/L de mentol, e 250 mg/L de benzocaína, não movimentaram o opérculo, e, os animais testados com 100, 150 e 200 mg/L de benzocaína, movimentaram o opérculo irregularmente.

VIDAL et al. (2008), avaliou seis concentrações de eugenol (50, 75, 100, 150, 200, 250 mg/L) em juvenis de tilápia-do-nilo, e observou que todos os animais atingiram o estágio de anestesia profunda. OLIVEIRA et al., (2009), observaram que juvenis de tilápia-do-nilo da linhagem chitralada ($29,6 \pm 0,06$ g), atingiram o estágio de anestesia profunda, após 5 minutos de exposição à dosagem de 40 mg/L de benzocaína. SIMÕES e GOMES (2009) avaliando o mentol em juvenis de tilápia-do-nilo com $13,68 \pm 4,44$ g, consideraram 250 mg/L de mentol mais adequada para a indução à anestesia cirúrgica, e para

anestesia voltada para biometria e inspeção visual do animal, a concentração mais adequada foi 150-200 mg/L.

Na tabela 6 estão descritos os valores do tempo de indução e do tempo de recuperação para as concentrações e anestésicos. Verifica-se que houve efeito significativo para todas as fontes de variação tanto para o tempo de indução quanto para o tempo de recuperação.

TABELA 6. Resumo da análise de variância do tempo de indução (TI) e Tempo de Recuperação (TR) dos anestésicos (AN) e das Concentrações (C) para a tilápia-do-nylo (*Oreochromis niloticus*) tailandesa

F.V	GL	QUADRADOS MÉDIOS	
		TI	TR
AN	2	138305.1**	1172026.0**
Resíduo (a)	6	14321.47	57005.75
C	3	5979.21*	221024.0**
AN x C	6	12400.38**	95004.86**
Resíduo (b)	18	1390.32	21733.38
C.V. (%) Parcela		58.44	44.18
C.V. (%) Subparcela		18.21	27,28

** F significativo ao nível de 1% de probabilidade.

* F significativo ao nível de 5% de probabilidade.

NS. F não F significativo ao nível de 5% de probabilidade.

Na tabela 7 encontramos as médias das variáveis tempos de indução (TI) e de recuperação (TR) em segundos, para as concentrações (C) e tipo de anestésicos (AN).

TABELA 7. Valores médios do tempo de indução (TI) e do tempo de recuperação (TR) para as respectivas combinações de anestésicos e concentrações para a tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*) tailandesa

C	TI			TR		
	AN1	AN2	AN3	AN1	AN2	AN3
100	260a	266a	170a	100b	185b	800a
150	420a	146b	98b	180b	594.3a	840a
200	275.6a	179.3ab	101.6b	363a	606.3a	585a
250	323.3a	158b	59b	299.3c	715.6b	1215.3a

As médias com pelo menos uma mesma letra na linha para cada variável não diferem entre si ao nível de 10% de probabilidade pelo teste de TUKEY;

TI = tempo de indução em segundos; TR = tempo de recuperação em segundos; C= concentração em mg/L; AN1= Mentol; AN2= Benzocaína; AN3= Eugenol.

Para a concentração de 100 mg/L, os valores médios dos TI das tilápias anestesiadas com AN1, AN2 e AN3 não diferiram estatisticamente. Nessa mesma concentração, o TR dos peixes tratados com AN3 apresentou um aumento significativo em relação aos TR das tilápias anestesiadas com o AN1 e com o AN2. As tilápias testadas com AN1 e AN2 não apresentaram diferença estatística para a variável TR.

Na dosagem de 150 mg/L, o TI dos peixes tratados com AN1 diferiu estatisticamente do TI dos que foram anestesiados com AN2 e AN3. E, o TI dos animais tratados com o AN2 e com o AN3 não diferiram estatisticamente. O TR das tilápias anestesiadas com AN1, nessa concentração, mostrou redução significativa comparado aos TR dos peixes tratados com o AN2 e o AN3. Já, o TR dos peixes anestesiados com AN2 não foi diferente estatisticamente do TR dos animais anestesiados com AN3.

O TI dos animais tratados com AN1 diferiu significativamente do TI dos peixes que foram testados com o AN3, na concentração de 200 mg/L. Esta variável, para as tilápias tratadas com AN2 e AN3, não foi diferente estatisticamente. As respostas obtidas para o TR, nessa mesma concentração,

para as tilápias tratadas com os três anestésicos, não apresentaram diferenças significativas.

Para a concentração de 250 mg/L, o TI dos animais anestesiados com o AN1 apresentou aumento significativo do TI dos peixes tratados com AN2 e AN3. O TI das tilápias tratadas com AN2 não diferiu estatisticamente das que foram anestesiadas com AN3.

As respostas do TR, para as tilápias testadas com os três anestésicos, foram diferentes estatisticamente. COTTER e RODNICK et al. (2006) não encontraram diferença significativa no tempo de recuperação à anestesia em truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*), ao avaliarem o eugenol e a benzocaína, respectivamente nas concentrações de 25 e 108 mg/L.

Na tabela 7, pode-se observar que o TI do AN3, mesmo onde não foi apresentada nenhuma redução significativa, foi o menor em relação aos anestésicos AN1 e AN2, em todas as concentrações avaliadas. Isto pode evidenciar que o óleo de cravo possa ser um anestésico mais potente para a tilápia-do-nilo da linhagem chitralada quando comparado ao mentol e à benzocaína. Em relação ao TR das tilápias anestesiadas com AN3, observou-se que nas concentrações de 100, 150 e 250 mg/L, esta variável foi maior quando comparada ao TR das tilápias anestesiadas com AN1 e AN2, mesmo onde não ocorreu diferença significativa. A recuperação dos peixes anestesiados com o óleo de cravo pode ser prolongada devido à natureza persistente deste anestésico na superfície das brânquias, aumentando efetivamente o tempo de exposição (SLADKY et al., 2001).

Na tabela 8 encontra-se as equações de regressão ajustadas das variáveis TI e TR em função das concentrações para os respectivos anestésicos.

TABELA 8. Equações de regressão ajustadas das variáveis Tempos de Indução (TI) e de recuperação (TR) em função das concentrações (C) dos respectivos anestésicos e os coeficientes de determinação para a tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*) tailandesa

ANESTÉSICOS	VARIÁVEL	EQUAÇÕES AJUSTADAS	R ²
AN1	TI	$\hat{Y} = 319,75$	-
AN2	TI	$\hat{Y} = 560,4 - 4,03C + 0,0098 C^2$	0,7547
AN3	TI	$\hat{Y} = 222,43 - 0,658C$	0,8496
AN1	TR	$\hat{Y} = -37,76 + 1,56C$	0,7301
AN2	TR	$\hat{Y} = -861,06 + 13,7C - 0,03 C^2$	0,9251
AN3	TR	$\hat{Y} = 2136,65 - 18,67C + 0,059 C^2$	0,6616

AN1= MENTOL; AN2= BENZOCAÍNA; AN3= EUGENOL; TI (tempo de indução em segundos); TR (tempo de recuperação em segundos).

O tempo de indução (TI) das tilápias anestesiadas com o mentol (AN1) foi constante, sendo seu valor igual a média (319,75 s). SIMÕES e GOMES (2009), encontraram em juvenis de tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*), um tempo médio de indução (540 s) maior para a concentração de 250 mg/L, que também levou o animal ao estágio de anestesia cirúrgica. Estes mesmos autores encontraram um tempo de indução para as concentrações de 150 e 200 mg/L menor do que o obtido para a tilápia tailandesa.

O tempo de recuperação (TR) das tilápias anestesiadas com o AN1 demonstrou um comportamento linear crescente em função da concentração (Figura 11). Neste caso, a cada 1 mg/L do anestésico, o TR terá um aumento de 1,56 segundos. Os valores encontrados, através da equação de regressão ajustada, para os tempos de recuperação nas concentrações 100, 150, 200 e 250 mg/L, foram 118,24 s; 196,24 s; 274,24 s e 352,24 s, respectivamente.

Como o TI das tilápias testadas com as quatro concentrações de mentol foi o mesmo, deve-se levar em consideração os menores tempos de recuperação para as dosagens que levaram esses animais ao mesmo estágio

de anestesia. Portanto, 100 mg/L de mentol foi a melhor dosagem para induzir tilápia tailandesa com $0,122 \pm 0,04$ Kg, ao estágio de anestesia profunda. E, para a indução deste peixe ao estágio de anestesia cirúrgica a melhor dosagem foi 200 mg/L. As dosagens de 100 e 200 mg/L de mentol são mais seguras para induzir tilápia tailandesa, cada uma em seu respectivo estágio anestésico, e também mais rentáveis para o piscicultor ou produtor em termos lucrativos.

FAÇANHA e GOMES (2005) avaliaram a eficácia do mentol para juvenis de tambaqui, *Colossoma macropomum*, ($88,69 \pm 23,85$ g), e determinaram que a melhor concentração de mentol para anestesia cirúrgica foi de 150 mg/L, uma vez que o tempo de indução foi menor, porém a recuperação foi significativamente mais demorada do que para as menores concentrações testadas. E, para uma sedação com finalidade de biometria, estes autores observaram que 100 mg/L foi a melhor concentração.

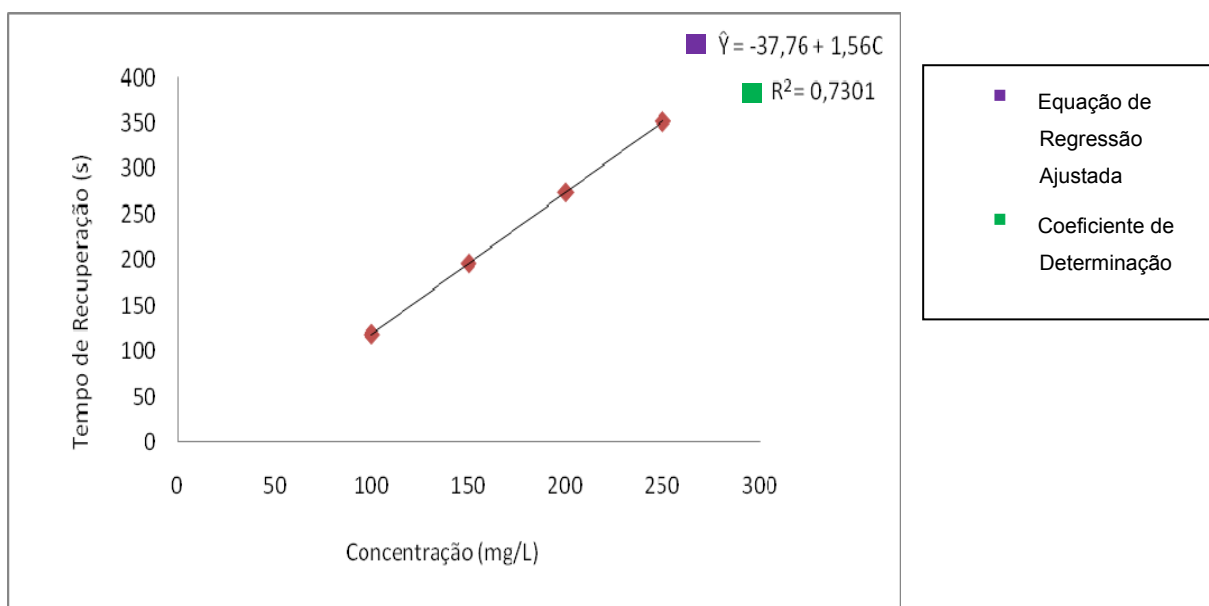


FIGURA 11. Tempo de recuperação de tilápias-do-nilo tailandesas (*Oreochromis niloticus*) submetidas a diferentes concentrações de mentol.

O TI das tilápias anestesiadas com a benzocaína (AN2), apresentou um comportamento quadrático (Figura 12). A concentração de 205,6 mg/L

corresponde ao TI mínimo igual a 146,09 segundos. Os tempos de indução encontrados, através da equação de regressão ajustada, de acordo com suas respectivas dosagens, foram: 100 mg/L (225,4 s), 150 mg/L (176,4 s), 200 mg/L (146,4 s) e 250 mg/L (165,4 s).

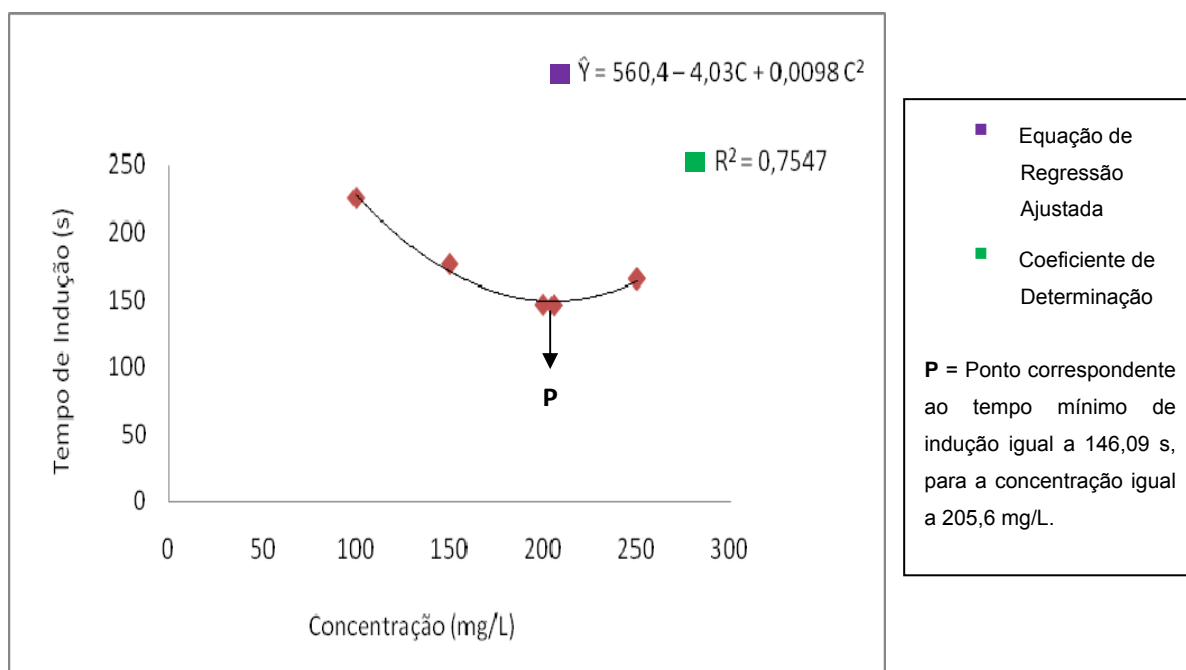


FIGURA 12. Tempo de indução de tilápias-do-nilo (*Oreochromis niloticus*) tailandesas submetidas a diferentes concentrações de benzocaína.

A Figura 13 demonstra que, o tempo de recuperação para os animais anestesiados com benzocaína também exibiu um comportamento quadrático. A concentração de 228,33 mg/L é equivalente ao TR máximo igual a 703,02 segundos. Os tempos de recuperação encontrados através da equação de regressão ajustada, para as concentrações de 100, 150, 200 e 250 mg/L foram 208,94 s; 518,94 s; 678,94s e 688,94 s, respectivamente.

Como as dosagens de benzocaína testadas tiveram a mesma eficiência pois induziram as tilápias tailandesas, na faixa de peso estudada, ao mesmo estágio anestésico, 100 mg/L deste fármaco mesmo apresentado o maior TI, obteve o menor TR, e, levando em consideração que é desejável que o peixe submetido à anestesia se recupere mais rapidamente, esta concentração foi a

melhor para induzir as tilápias tailandesas à anestesia cirúrgica. E, 100 mg/L de benzocaína também apresenta maior segurança para anestésiar tilápias tailandesas, e para o piscicultor é mais rentável financeiramente.

DELBON et al. (2006), recomendou as dosagens de 100 e 150 mg/L de benzocaína, para tilápia do nilo com $108,28 \pm 11,65g$, à 23°C.

GOMES et al. (2001), também consideraram as concentrações de benzocaína de 100-150 mg/L ideais para juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum*), com peso médio de $9,32 \pm 3,70 g$.

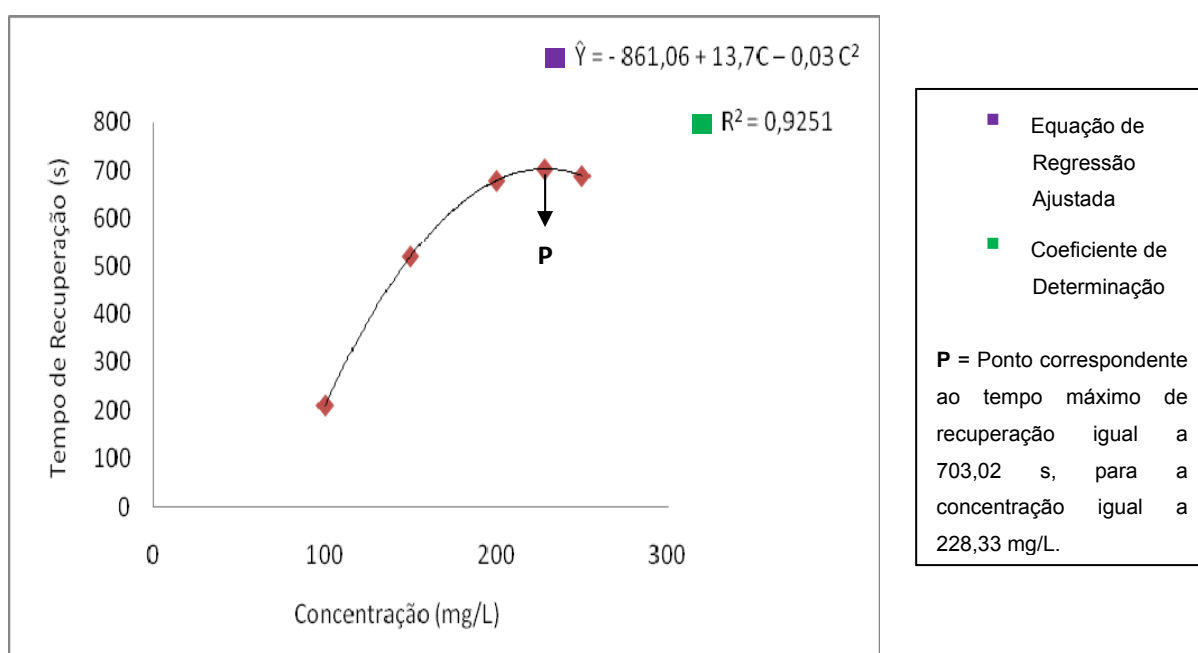


FIGURA 13. Tempo de recuperação de tilápias-do-nilo (*Oreochromis niloticus*) tailandesas submetidas a diferentes concentrações de benzocaína.

A figura 14, obtida através da equação de regressão ajustada (Tabela 8), mostra que o TI das tilápias anestesiadas com eugenol (AN3) apresentou um comportamento linear decrescente em função da concentração. A cada acréscimo de 1 mg/L do anestésico, o TI diminui 0,658 segundos. Isto demonstra que, o aumento da concentração de eugenol influenciou o tempo de indução à anestesia em tilápias-do-nilo tailandesas. Os tempos de indução

encontrados através da equação, das concentrações 100, 150, 200, 250 mg/L foram 156,63 s; 123,73 s; 90,83 s e 57,93 s, respectivamente.

Na figura 14, é possível visualizar que o tempo de indução foi maior para as menores concentrações de óleo de cravo. HISANO et al. (2008), avaliando o tempo de indução e de recuperação em juvenis de dourados (*Salminus brasiliensis*), também encontraram maior tempo de indução nas menores dosagens.

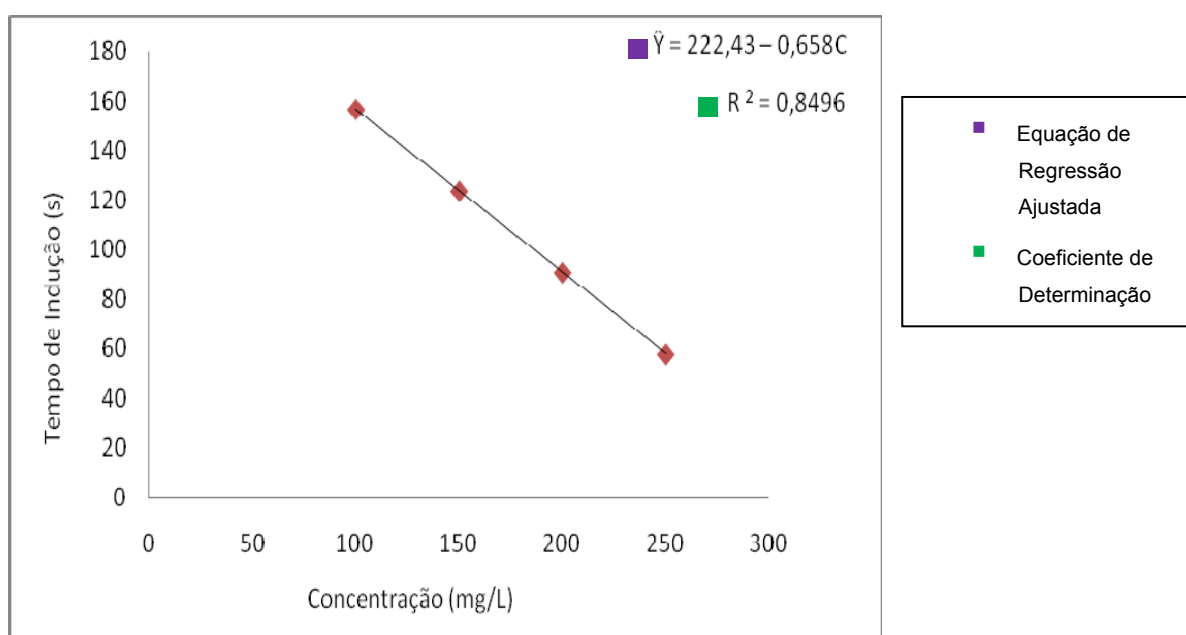


FIGURA 14. Tempo de indução de tilápias-do-nilo (*Oreochromis niloticus*) tailandesas submetidas a diferentes concentrações de óleo de cravo.

Na Figura 15, observa-se que o TR das tilápias anestesiadas com AN3, mostrou um comportamento quadrático. A concentração de 158,22 mg/L está relacionada ao TR mínimo de 659,66 segundos. Os tempos de recuperação encontrados através da equação de regressão ajustada, para as dosagens de 100, 150, 200, 250 foram 859,65 s; 663,65 s; 762,65 s e 1156,65 s, respectivamente. Os tempos de recuperação das tilápias anestesiadas com o óleo de cravo foram bem prolongados. A recuperação pode ser prolongada

devido à natureza persistente do óleo de cravo na superfície das brânquias, aumentando efetivamente o tempo de exposição (SLADKY et al., 2001). As concentrações tiveram menor influência no tempo e recuperação.

A dosagem de 150 mg/l de óleo de cravo foi a mais eficiente para anestésiar tilápia-do-nylo da linhagem chitralada na faixa de peso estudada, pois apresentou o menor TR.

PEREIRA-da-SILVA et al. (2009), avaliando o efeito do óleo de cravo em alevinos de lambari com $0,6 \pm 0,1$ g, observaram o mesmo comportamento descrito no atual trabalho, para o tempo de indução à anestesia profunda e o tempo de recuperação.

Outros autores também verificaram que o tempo de indução à anestesia de peixes diminuiu à medida que se aumentou a concentração, porém, não examinaram influência das concentrações no tempo de recuperação (INOUE et al., 2003; VIDAL et al., 2006; VIDAL et al., 2007a).

CUNHA (2007), avaliando o óleo de cravo para juvenis de jundiás ($2,14 \pm 0,01$ g e $7,0 \pm 0,1$ cm), observou que nas concentrações avaliadas (20, 30, 40, 50, 60 e 70 mg/L), o aumento da concentração diminuiu proporcionalmente o tempo necessário para indução aos estágios 2 (sedação profunda) e 4 (anestesia). Porém, não observou nenhuma diferença no tempo de recuperação nas diferentes concentrações. Considerou 50 mg/L, a concentração mais indicada para ser utilizada na indução à anestesia para jundiás, uma vez que não ocorreram mortes, e os tempos médios de indução e recuperação foram, respectivamente, 111 s e 206 s.

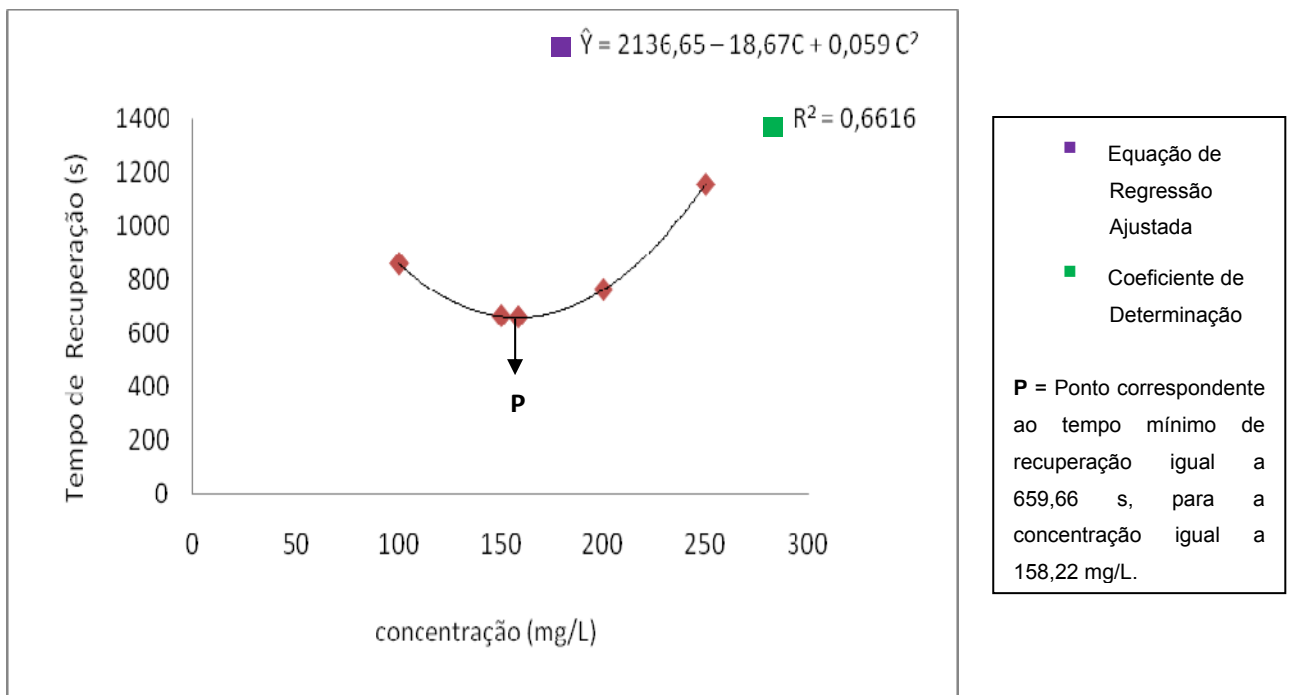


FIGURA 15. Tempo de recuperação de tilápias-do-nilo (*Oreochromis niloticus*) tailandesas submetidas a diferentes concentrações de óleo de cravo.

Nas figuras 12, 13, 14 e 15, comparando-se as concentrações similares dos anestésicos, o eugenol possui tempo de indução menor, porém maior tempo de recuperação em relação à benzocaína. Por exemplo, o TI das concentrações de 100 e 250mg/L, do eugenol e da benzocaína, foram, respectivamente, 156,63 s e 57,93 s; e 225,4 s e 165,4 s. Os tempos de recuperação do eugenol e da benzocaína, nessas mesmas concentrações foram: 859,6 s e 1156,6 s; e, 208,94 s e 688,94 s, respectivamente.

Esses resultados corroboram com os de DELBON (2006), ao comparar concentrações semelhantes do óleo de cravo e da benzocaína, em tilápia do nilo (*Oreochromis niloticus*). SLADKY et al. (2001), encontraram os mesmo resultados ao compararem os tempos de indução e de recuperação do óleo de cravo e do MS-222.

5.3 Matrinxã

As temperaturas médias da água do tanque onde os peixes foram acondicionados antes da anestesia, da caixa de indução à anestesia e a do tanque de recuperação foram, em média, $18,75 \pm 1,00$ °C; $18,68 \pm 0,97$ °C e $19,24 \pm 0,72$ °C, respectivamente.

Para todas as concentrações testadas de mentol, benzocaína e eugenol, os matrinxãs atingiram o estágio de anestesia profunda. Todos os peixes que atingiram esse estágio movimentaram o opérculo regular e devagar, exceto os animais anestesiados com 100 mg/L de mentol, que apresentaram movimento opercular pouco mais rápido do que os outros. VIDAL et al. (2007a) avaliando o eugenol em juvenis de matrinxã (*Brycon cephalus*), mantiveram os peixes até o estágio de anestesia profunda nas concentrações de 50; 62,5; 75; 100; 125; 150; 175 e 200 mg/L. INOUE et al. (2004), observaram que um grupo matrinxã (46.1 ± 6.2 g e 15.3 ± 0.8 cm) foram induzidos ao estágio de anestesia profunda com 60 mg/L de benzocaína. FAÇANHA e GOMES (2005), determinaram que 100 mg/L de mentol é a melhor para anestésiar juvenis de tambaqui com a finalidade de biometria.

A tabela 9 mostra os valores do tempo de indução e do tempo de recuperação em segundos, para os anestésicos e as concentrações. Nota-se que para o tempo de indução, a interação dos anestésicos com as concentrações não teve efeito significativo, e as outras fontes de variação foram significativas. Nenhuma das fontes de variação para o tempo de recuperação apresentou efeito significativo.

TABELA 9. Resumo da análise de variância do Tempo de Indução (TI) e Tempo de Recuperação (TR), ambos em segundos, dos anestésicos (A) mentol e benzocaína e das Concentrações (C), para o matrinxã (*Brycon cephalus*)

QUADRADOS MÉDIOS			
F.V	GL	TI	TR
A	1	36037.50*	927873.4 ^{NS}
Resíduo (a)	4	6562.50	263685.9
C	3	7637.50*	490413.4 ^{NS}
AN x C	3	1237.50 ^{NS}	189933.4 ^{NS}
Resíduo (b)	12	1362.50	662545.9
C.V. (%) Parcela		57,35	67,26
C.V. (%) Subparcela		26,13	106,62

* F significativo ao nível de 5% de probabilidade. NS. F não significativo ao nível de 5% de probabilidade. TI (s); TR (s).

A tabela 10 mostra os valores médios dos tempos de indução e de recuperação, em segundos, para o mentol e a benzocaína.

TABELA 10. Valores médios de TI (Tempo de indução) em segundos, do mentol (AN1) e benzocaína (AN2), para o matrinxã (*Brycon cephalus*)

ANEST.	TI
AN1	180,0a
AN2	102,5b

As médias seguindo de uma mesma letra na coluna não diferem entre si ao nível de 10% de probabilidade pelo teste F. TI (s).

O tempo de indução (TI) dos matrinxãs anestesiados com o mentol (AN1) apresentou aumento significativo em relação ao TI dos matrinxãs anestesiados com a benzocaína (AN2). As concentrações testadas do AN1 e do AN2 foram as mesmas, e os matrinxãs chegaram ao mesmo estágio anestésico. Como os animais anestesiados com AN1 necessitaram de maior TI do que os peixes anestesiados com AN2, e a classe de matrinxãs utilizada foram somente de adultos reprodutores, é possível que a benzocaína seja um anestésico mais eficiente do que o mentol para anestésiar matrinxã com $1,38 \pm 0,11$ Kg.

Na tabela 11, está descrito as equações de regressão ajustadas do tempo de indução e do tempo de recuperação, em função das concentrações do mentol e da benzocaína e seus respectivos coeficientes de determinação.

TABELA 11. Equações de regressão ajustadas das variáveis: Tempo de Indução (TI) e Tempo de recuperação (TR) em função das concentrações (C) do mentol e da benzocaína e os coeficientes de determinação, para o matrinxã (*Brycon cephalus*)

Variável	Equações ajustadas	R ²
TI	$\hat{Y} = 343,75 - 2,025C + 0,0045C^2$	0,7954
TR	$\hat{Y} = 763,37$	-

TI= Tempo de Indução em segundos; TR= Tempo de Recuperação em segundos.

O tempo de indução (TI) dos matrinxãs anestesiados tanto com o mentol (AN1) quanto com a benzocaína (AN2), apresentou um comportamento quadrático (Figura 16). O valor mínimo do TI encontrado, utilizando a equação de regressão ajustada, foi de 115,9 segundos, correspondente à concentração de 225 mg/L. Utilizando-se a equação de regressão ajustada (Tabela 11), encontrou-se para as concentrações 100, 150, 200 e 250 mg/L, os respectivos tempos de indução: 186,25 s; 141,25 s; 118,75 s e 118,75 s.

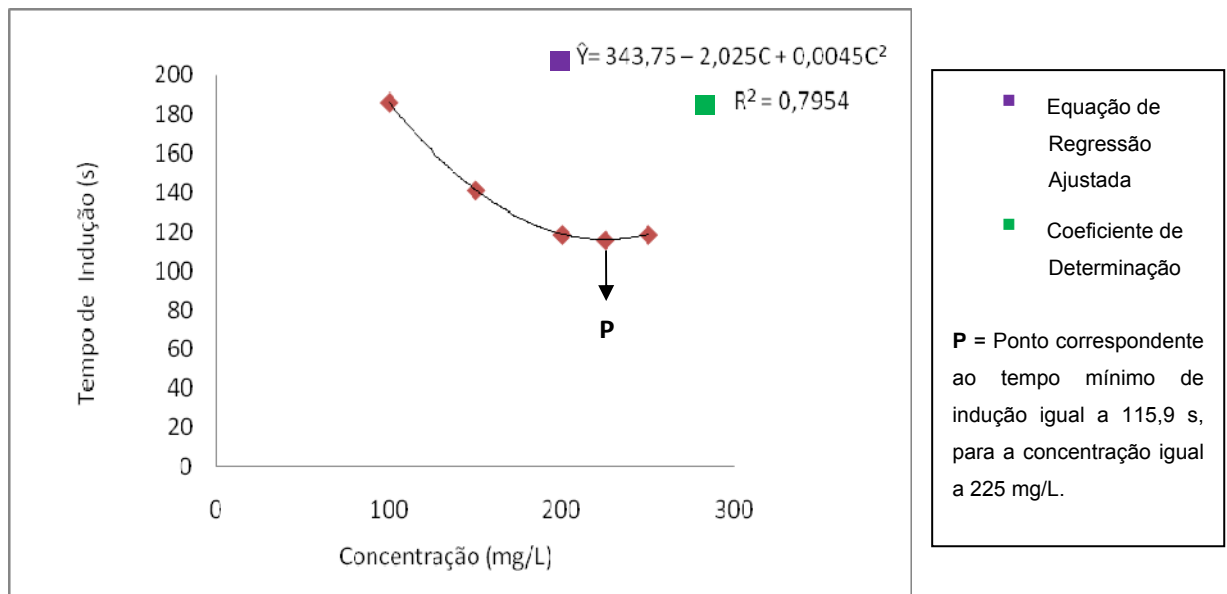


FIGURA 16. Tempo de indução dos matrinxãs (*Brycon cephalus*) submetidos à anestesia de mentol e benzocaína em diferentes concentrações.

O tempo de recuperação (TR) dos matrinxãs anestesiados com o AN1 e com a AN2 foi constante, sendo que para as concentrações testadas, seu valor foi igual à média, ou seja, 763,37 segundos (Tabela 11). Nota-se que o TR destes animais foi prolongado. Segundo ROSS e ROSS (2008) a benzocaína é solúvel em gordura e o tempo de recuperação pode ser prolongado em animais mais velhos ou fêmeas grávidas ou seguido de exposição longa.

Como os matrinxãs anestesiados com mentol e benzocaína apresentaram tempo de recuperação constante para todas as dosagens testadas, e mesmo que o tempo de indução desses animais anestesiados com 100 mg/L dos anestésicos foi o maior, esta dosagem apresentou a mesma eficiência em relação as outras para induzir os peixes à anestesia. Portanto, 100 mg/L de mentol e benzocaína foi a melhor para induzir os matrinxãs com $1,38 \pm 0,11$ Kg à anestesia profunda. Sua utilização também oferece maior margem de segurança para os peixes, e seu uso em pesquisas ou sistemas de produção é mais vantajoso em termos lucrativos.

INOUE et al. (2002) determinaram que a concentração de 60 mg/L de benzocaína é eficiente para anestésiar juvenis de matrinxã em aproximadamente um minuto.

INOUE et al. (2004), observaram que um grupo matrinxã (46.1 ± 6.2 g e 15.3 ± 0.8 cm), anestesiado com 20 mg/L de benzocaína, obteve o estágio de anestesia leve. E, outro grupo anestesiado com 60 mg/L do mesmo fármaco, chegou ao estágio de anestesia profunda.

Na tabela 12 encontramos as médias das variáveis tempos de indução e de recuperação em função das concentrações para as concentrações e o óleo de cravo utilizado como anestésico para o matrinxã.

TABELA 12. Médias estimadas para o Tempo de Indução (TI) e o Tempo de Recuperação (TR), ambos em segundos, em função da concentração (C) para o óleo de cravo utilizado como anestésico em matrinxã (*Brycon cephalus*)

C	TI	TR
100	200a	420a
150	180a	600a

As médias seguindo de uma mesma letra na coluna não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

A tabela 12 mostra que, no teste com o óleo de cravo em matrinxã, tanto o TI quanto o TR não apresentaram diferenças estatísticas entre as concentrações de 100 e 150 mg/L.

A concentração de 100 mg/L de óleo de cravo foi mais eficiente para anestésiar matrinxã na faixa de peso avaliada, pois 150 mg/L apresentaram tempo de recuperação mais prolongado. Essa dosagem também apresenta vantagem financeira para o piscicultor, além de oferecer maior margem de segurança para o peixe.

De acordo com VIDAL et al. (2007a), 50; 62,5; 75; 100; 125; 150; 175 e 200 mg/L de eugenol levaram juvenis de matrinxã, *Brycon cephalus*, ($3,31 \pm$

0,57 g) ao estágio de anestesia profunda, e, este mesmo autor, indica 50 mg/L de eugenol como dose segura para anestésiar juvenis de matrinxã.

INOUE et al. (2003), estudando o óleo de cravo para juvenis de matrinxã (*Brycon cephalus*), avaliou que este é um anestésico potente para induzir o peixe ao estágio 3 (o peixe perde completamente o equilíbrio e é incapaz de recuperar a posição de nado) dentro de aproximadamente um minuto, nas concentrações que variam de 40 a 50mg/L.

VIDAL et al. (2007b) avaliou que não há influência do peso corporal de juvenis de matrinxã (3,08 à 38,45 g) e tambaqui (1,32 à 33,03g) sobre o tempo de indução e de recuperação à ação anestésica de eugenol. No teste realizado por estes autores, 50 mg/L de eugenol foi capaz de induzir os animais à anestesia profunda.

Os anestésicos testados nos reprodutores de matrinxãs podem ser aplicados durante o manejo da reprodução induzida, ou serem utilizados para o transporte desses animais, dos tanques onde ficam alocados até o laboratório onde estes passarão pelos procedimentos de manejo reprodutivo.

6. CONCLUSÃO

O mentol, o óleo de cravo e a benzocaína são anestésicos de fácil manipulação, seguros para os operadores, apresentam boa margem de segurança para o pacu (*Piaractus mesopotamicus*), matrinxã (*Brycon cephalus*) e tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*) tailandesa, e são eficazes para induzir estas espécies estudadas à anestesia.

A concentração de 100 mg/L de mentol, óleo de cravo e benzocaína, é a melhor para induzir pacu (*Piaractus mesopotamicus*) com $2,73 \pm 0,51$ kg, à anestesia profunda. E, 200 mg/L de óleo de cravo é a mais eficaz para induzir esta espécie à anestesia cirúrgica.

A dosagem de 100 mg/L de mentol é mais eficiente para induzir a tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*) tailandesa, com $0,122 \pm 0,04$ Kg , à anestesia profunda. E, 200 mg/L de mentol é a dosagem mais eficaz para indução deste peixe à anestesia cirúrgica. A concentração 100 mg/L de benzocaína é a mais eficiente para induzir tilápia-do-nilo tailandesa à anestesia cirúrgica. E, 150 mg/l de óleo de cravo é a melhor dosagem para induzir esta espécie à anestesia profunda.

A concentração de 100 mg/L de mentol, benzocaína e óleo de cravo é a mais eficiente para induzir o matrinxã (*Brycon cephalus*), com $1,38 \pm 0,11$ Kg, ao estágio de anestesia profunda.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A anestesia em peixes maiores como o pacu e o matrinxã, e, em tilápias, as quais possuem espinhos nas nadadeiras, é importante tanto para minimizar os danos causados a estes animais durante a biometria e a marcação, bem como para facilitar o trabalho dos operadores durante a execução de práticas de manejo em piscicultura.

As concentrações eficientes de mentol, a benzocaína e o óleo de cravo podem ser aplicadas durante o manejo da reprodução induzida em pacus e matrinxãs. Ou, estes fármacos podem ainda ser usados para o transporte destes animais dos tanques onde ficam alocados, para o laboratório onde será feito o procedimento de reprodução induzida.

Para o trabalho de reprodução induzida feito na borda do tanque, em que o animal não precisa ser transportado até o laboratório, dosagens menores do que 100 mg/L de mentol, óleo de cravo e benzocaína podem ser testadas, com a finalidade de encontrar a concentração mínima ideal para sedação do peixe, na realização deste procedimento.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACERATE, L.; BALASCH, J.C.; ESPINOSA, E.; JOSA, A.; TORT, L. 2004. Physiological responses in Eurasian perch (*Perca fluviatilis*, L.) subjected to stress by transport and handling. *Aquaculture* 237,167-178.

ALLEN, J.L. 1988. Residues of benzocaine in Rainbow trout, largemouth bass, and fish meal. *Progressive fish Culturist*. 50: 59-60.

ANDERSON, W.G.; MCKINLEY, R.S. e COLAVECCHIA, M.N., 1997. The use of clove oil as an anaesthetic for rainbow trout and its effects on swimming performance. *North American Journal of Fish Management* 17, 301-307.

ANTUNES, M. I. P. P.; SPURIO, R. S.; GODOI, D. A.; GRUMADAS, C. E. S.; ROCHA, M. A., 2008. Cloridrato de benzocaína na anestesia de carpas (*Cyprinus carpio*). *Ciências Agrárias, Londrina*. 29(1): 151-156.

BARBOSA, L. G.; MORAES, G.; INOUE, L. A. K. A., 2007. Respostas metabólicas do matrinxã submetido a banhos anestésicos de eugenol. *Acta Sci. Biol. Sci., Maringá*. 29(3): 255-260.

BOCK, C.L.; PADOVANI, C. R., 2000. Considerações sobre a reprodução artificial e alevinagem de pacu (*Piaractus mesopotamicus*, Holmberg, 1887) em viveiros. *Acta Scientiarum* 22(2): 495-501.

BOLASINA, S. N. 2006. Cortisol and hematological response in Brazilian codling, *Urophycis brasiliensis* (Pisces, Phycidae) subjected to anesthetic treatment. *Aquacult Int*. 14:569–575.

BORGES, A. M.; MORETTI, J. O. C.; MCMANUS, C.; MARIANTE, A. S., 2005. Produção de populações monossexo macho de tilápia-do-nilo da linhagem Chitralada. *Pesq. agropec. bras., Brasília*. 40(2): 153-159.

BOWSER, P. R., 2001. Anesthetic options for fish. In: Recent Advances em Veterinary and Analgesia: Companion animals, Gleed, R. D.; Ludders, J. W (Eds.). International Veterinary Information Service (www.ivis.org), Ithaca, Nova York, EUA.

BRESSLER, K.; RON, B. 2004. Effect of anaesthetics on stress and the innate immunes system of gilthead seabream (*Sparus aurata*). The Israeli Journal of Aquaculture – Bamidgeh 56(1), 5-13.

BROWN, L. A., 1993. Anesthesia and restraint. Em: Fish Medicine (STOSKOPF, M. K. ed.), p. 79-90. Sauders, Philadelphia.

BURKA, J. F.; HAMMEL, K. I.; HORSBERG, T. E.; JOHNSON, G. R.; RAINNIE, D. J.; SPEARS, D. J., 1997. Drugs in salmonid aquaculture - a review. J. Vet. Pharmacol. Ther. 20: 333-349.

CARNEIRO, P. e URBINATE, E., 2001. Plasma electrolyte disturbance in matrinxã *Brycon cephalus* transported under influence of benzocaine. Journal of Applied Aquaculture. 11(4): 1-13.

CASTAGNOLLI, N.; DONALDSON, M. E., 1981. Induced ovulation and rearing of the pacu (*Colossoma mitrei*). Aquaculture. 25(2): 275-279.

CHO, G.K., HEATH, D.D. 2000. Comparison of tricane metanesuphonate (MS222) and clove oil anaesthesia effects on the physiology of juvenile chinook salomon *Oncorhynchus tshawytscha*. Aquac. Res. 31, 537– 546.

COLLINS, V.J. 1978. Princípios de Anestesiologia. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 119p.

COTTER, P.A.; RODNICK, K.J., 2006. Differential effects of anesthetics on electrical properties of the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) heart. Comparative Biochemistry and Physiology, Part A, 145: 158–165.

COYLE, S.D.; Durborow, R.M.; Tidwell, H.J. 2004. Anaesthetics in Aquaculture. SRAC Publication No. 3900. Southern Regional Aquaculture Center, USA.

CUNHA, F.E.A.; ROSA, I.L., 2006. Anesthetic effects of clove oil on seven species of tropical reef teleosts. *Journal of Fish Biology* 69: 1504-1512. Disponível online em <http://www.blackwell-synergy.com>.

CUNHA, M. A. 2007. Anestesia em jundiás (*Rhamdia quelen*) expostos a substâncias isoladas de plantas. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Santa Maria, Rio Grande do Sul.

DELBON, M. C. 2006. Ação da Benzocaína e do Óleo de Cravo sobre parâmetros fisiológicos de tilápia, *Oreochromis niloticus*. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Jaboticabal.

DONALDSON, E.M., 1981. The pituitary-interrenal axis as an indicator of stress in fish. In: Pickering, A.D. (Ed.), *Stress in Fish*. Academic Press, London, UK, pp. 11–47.

EL-SAYED ALI, T.; MONINO, A.; CERDA, M. J., 2003. Primeros ensayos de determinación Del consumo de oxígeno de juveniles de tilápia (*Oreochromis niloticus*, L.) bajo diferentes condiciones de temperatura y frecuencia alimentaria. *Panorama Acuicola Online*. Disponível em: http://www.panoramaacuicola.com/noticia.php?art_clave=651. Acesso em 05 out. 2009.

FAÇANHA, M. F.; GOMES, L. C. 2005. A eficácia do mentol como anestésico para tambaqui (*Colossoma macropomum*, Characiformes: Characidae). *Acta Amazônica*. vol. 35(1) 71 – 75.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. *Fish Stats Plus: universal software for fishery statistical time series: version 2.32*. Rome, Italy, 2007.

FRYER, J.N., 1975. Stress and adrenocorticosteroid dynamics in the goldfish, *Carassius auratus*. *Can. J. Zool.* 53: 1011–1020.

FURUYA, W. M.; NEVES, P.R.; SILVA, L.C.R.; BOTARO, D. CARMINO, H.; SAKAGUTI, E.S., 2004. Fitase na alimentação da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), durante o período de reversão de sexo. *Acta Scientiarum. Animal Sciences.* Maringá, 26(3): 299-303.

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

GILDERHUS, P.A.; MARKING, 1987. Comparative efficacy of 16 anesthetic chemicals on *Raibonw trout*. *North American Journal of fisheries Management* 7: 288-292.

GILDERHUS, P.A., 1989. Efficacy of benzocaine as na anesthetic for salmonid fish. *North American Journal of fisheries Management* 9: 150-153.

GIMBO, R.Y.; SAITA, M.V.; GONÇALVES, A.F.N.; TAKAHASHI, L.S., 2008. Diferentes concentrações de benzocaína na indução anestésica do lambari-do-raboamarelo (*Astyanax altiparanae*). *Rev. Bras. Saúde Prod. An.* 9(2): 350-357.

GOULDING, M., 1980. *The fishes and the forest, exploration in Amazonian natural history.* Berkeley and Los Angeles: University of California, 280p.

GOMES, L.C.; CHIPPARI-GOMES, A.R.; LOPES, N.P.; ROUBACH, R.; ARAUJO-LIMA, A.R.M., 2001. Efficacy of benzocaine as a anesthetic in juvenile tambaqui, *Colossoma macropomum*. *Journal of the World Aquaculture Society.* 32(4): 426-431.

GONÇALVES, A.F.N.; SANTOS, E.C.C., FERNANDES, J.B.K.; TAKAHASHI, L.S., 2008. Mentol e eugenol como substitutos da benzocaína na indução anestésica de juvenis de pacu. *Acta Sci. Anim. Sci.* 30(3): 339-344.

GRAEF, E. W.; RESENDE, E. K. DE, PETRY, P.; STORTI FILHO, A. 1987. Policultivo de matrinhã (*Brycon* sp) e jaraqui (*Semaprochilodus* sp) em pequenas represas. *Acta Amazonica*, 16/17 (único): 33-42.

GUNN, E., 2000. Floundering in the foibles of fish anesthesia. [S.L.]: Universidade do Algarve. Disponível em: http://www.ualg.pt/npfcma/docs/trab_bmp/taq_anestesia.pdf>. Acesso em: 11/08/2009.

HAJEK, G. J.; KLYSZEJKO, B.; DZIAMAN, R., 2006. The Anaesthetic effect of clove oil on common carp, *Cyprinus carpio* L. *Acta Ichthyologia et Piscatoria* 36 (2): 93-97.

HIKASA, Y. et al., 1986. Anesthesia and recovery with tricaine methenesulfonate, eugenol and thiopental sodium in the carp, *Cyprinus carpio*. *Jpn. J. Vet. Sci.*, Tokyo, 48: 341-351.

HISANO, H.; ISHIKAWA, M.M.; FERREIRA, R.A.; BULGARELLI, A.L.A.; COSTA, T. R.; PADUA, S.B., 2008. Tempo de indução e de recuperação de dourados *Salminus brasiliensis* (Cuvier, 1816), submetidos a diferentes concentrações de óleo de cravo *Eugenia* sp. *Acta Sci. Biol. Sci.*, Maringá. 30(3): 303-307.

HONCZARYK, A.; INOUE, L. A.K.A., 2009. Anestesia do pirarucu por aspersão direta nas brânquias do eugenol em solução aquosa. *Ciência Rural*, Santa Maria. 39(2): 577-579.

HOSKONEN, P.; PIRHONEN, J., 2004. Temperature effects on anaesthesia with clove oil in six temperate-zone fishes. *Journal of Fish Biology*. 64, 1136–1142.

HUSSAIN, M. M. A.; WADA, S.; HATAI, K.; YAMAMOTO, A. 2000. Antimycotic activity of eugenol against selected water molds. *Journal of Aquatic Animal Health* 12: 224-229.

INOUE, L. A. K. A.; SANTOS NETO, C.; MORAES, G., 2002. Benzocaína como anestésico para juvenis matrinxã (*Brycon cephalus*). Boletim Técnico do CEPTA, Pirassununga. 15: 23-30.

INOUE, L. A. K. A.; SANTOS NETO, C.; MORAES, G., 2003. Clove oil as anaesthetic for juveniles of matrinxã *Brycon cephalus* (Gunther, 1869). Ciência Rural, Santa Maria. 33(5): 943-947.

INOUE, L.A.K.A.; HACKBARTH, A.; MORAES, G., 2004. Avaliação dos anestésicos 2-phenoxyethanol e benzocaína no manejo do matrinxã *Brycon cephalus* (Günther, 1869). Biodiversidade Pampeana, PUCRS, Uruguiana. 2: 10-15.

IVERSEN, M.; FINSTAD, B.; MCKINLEY, R.S.; ELIASSEN, R.A., 2003. The efficacy of metomidate, clove oil, Aqui-S™ and Benzoak® as anesthetics in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) smolts, and their potential stress reducing capacity. Aquaculture 221:549–566.

IZEL, A. C. U., 2000. Determinação de níveis protéicos adequados para a nutrição do matrinxã (*brycon cephalus* - Gunther, 1869). Manaus: UA. 49p. Dissertação (Mestrado).

IZEL, A.C.U.; MELO, L.A.S., 2003. Criação de matrinxã (*Brycon cephalus*) em barragens no Estado do Amazonas. Manaus: Embrapa. Comunicado técnico, 20.

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*. J. Aquac. 18: 272–279.

KING, W.V.; HOOPER, B.; HILLSGROVE, S.; BENTON, C.; BERLINSKY, D. 2005. 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* 36: 1442-1449.

KIESSLING, A.; JOHANSSON, D.; ZAH, I. H.; SAMUELSEN, O. B. 2009. Pharmacokinetics, plasma cortisol and effectiveness of benzocaine, MS-222 and isoeugenol measured in individual dorsal aorta-cannulated Atlantic salmon (*Salmo salar*) following bath administration. *Aquaculture* 286: 301–308.

KILDEA, M. et al., 2004. Accumulation and clearance of the anesthetics clove oil and Aqui-STM from the edible tissue of silver perch (*Bidyanus bidyanus*). *Aquaculture, Netherlands*. 232: 265-277.

KUBITZA, F. *Tilápia: tecnologia e planejamento na produção comercial*. Jundiaí: F. Kubitza, 2000. 285p.

KUBITZA, F. 2003. Amenizando as perdas de alevinos após o manejo e transporte. *Panorama da Aqüicultura*, 13: 15-25.

LIMA, R.V.A.; BERNARDINO, G.; VAL-SELLA, M.V.; et al., 1991. Tecido germinativo ovariano e ciclo reprodutivo de pacu (*Piaractus mesopotamicus*, Holmberg, 1887) mantidos em cativeiros. *Bol. Téc. Cepta*, 4(1):1-46.

LORENZO, D.; PAZ, D.; DELLACASSA, E. et al., 2002. Essential oils of *Mentha pulegium* and *Mentha rotundifolia* from Uruguay. *Brazilian Archives of Biology and Technology* 45: 519-524.

MARTINS, E.R.; CASTRO, D.M.; CASTELLANII, D.C.; DIAS, E.J., 2000. *Plantas Mediciniais*. Ed. UFV, Viçosa, Minas Gerais. 220pp.

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

MAZZAFERA, P., 2003. Efeito alelopático do extrato alcoólico do cravo-da-índia e eugenol. *Revista Brasileira de Botânica*. 26: 231-238.

MCFARLAND, W. N. 1960. The use of anesthetics for the handling and the transport of fishes. Calif. Fish Game, Sacramento, 46: 407-431.

MEINERTZ, I. R. Metabolism, elimination, and pharmacokinetics of the fish anesthetic benzocaine. Em: SMITH, D. J.; GINGERICH, W. H.; BECONI-BARKER, M. G. *Xenobiotics in fish*. Dordrecht: Klumer Academic Publishers, 1999. p.189-200.

MUNDAY, P. L.; WILSON, S. K., 1997. Comparative efficacy of clove oil and other chemicals in anaesthetization of *Pomacentrus amboinensis*, a coral reef Fish. Journal of Fish Biology, 51, 931–938.

NAGABABU, E.; LAKSHMAIAH, N., 1992. Inhibitory effects of eugenol on non-enzymatic lipid peroxidation in rat liver mitochondria. Biochemical Pharmacology 43: 2393-2400.

NAKATANI, K. AGOSTINHO, A.A.; BAUMGARTNER, G.; BIALETZKI, A.; SANCHES, P.V.; MARKRAKIS, M.C.; PAVANELLI, C.S., 2001. Ovos e larvas de peixes de água doce: desenvolvimento e manual de identificação. Maringá: EDUEM, 378p.

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

OLIVEIRA, J.R.; CARMO, J.L.; OLIVEIRA, K.K.C.; SOARES, M.C.F., 2009. Cloreto de sódio, benzocaína e óleo de cravo-da-índia na água de transporte de tilápia-do-nilo. R. Bras. Zootec. 38(7):1163-1169.

PARK, M.O. et al., 2003. Anaesthetic effect of lidocaine hydrochloride sodium bicarbonate and MS-222 on the greenling (*Hexagrammos otakii*). Journal of the Korean Fisheries Society. 36: 449-453.

PEREIRA-da-SILVA, E. M.; OLIVEIRA, R. H. F.; RIBEIRO, M. A. R.; COPPOLA, M. P., 2009. Efeito anestésico do óleo de cravo em alevinos de lambari. *Ciência Rural*, 39(6): 1851-1856.

PIRHONEN, J.; SCHRECK, C.B. 2003. Effects of anaesthesia with MS-222, clove oil and CO₂ on feed intake and plasma cortisol in steelhead trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 220: 507-514.

PIZANGO-PAIMA, E. G., 1997. Estudo da alimentação e composição corporal do matrinxã, *Brycon cephalus* (Gunther, 1869) (Characiformes, Characidae) na Amazônia central. 71p. Dissertação (Mestrado) - Manaus: INPA/ FUA.

PIZANGO-PAIMA, E.G.; PEREIRA-FILHO, M.; OLIVEIRA-PEREIRA, M.I., 2001. Composição corporal e alimentar do matrinxã, *Brycon cephalus*, na Amazônia central. *Acta Amazônica*, Manaus. 31(3): 509–520.

QUEIROZ, J.F. et al., 2005. Aquaculture in Brazil: research priorities and potential for further international collaboration. *World Aquac. Magaz.*, Baton Rouge. 36: 45-50.

REIS NETO, V.R., 2007. Avaliações morfométricas de juvenis de pacu (*Piaractus mesopotamicus*), tambaqui (*Colossoma macropomum*) e seus híbridos. 63p. Tese (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Lavras, Minas Gerais.

ROSS, L.G.; ROSS, B., 2008. Anaesthetic and sedative techniques for aquatic animals. 3rd ed. Oxford: Blackwell Science, 236p.

ROUBACH, R.; GOMES, L.C., 2001. O uso de anestésicos durante o manejo de peixes. *Panorama da Aqüicultura*. 11(66): 37-40.

ROUBACH, R. et al. 2005. Eugenol as an efficacious anaesthetic for tambaqui *Colossoma macropomum* (Cuvier). *Aquaculture Research*, Oxon, 36 (11): 1056-1061.

SIMÕES, L.N.; GOMES, L.C., 2009. Eficácia do mentol como anestésico para juvenis de tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*). Arq. Bras. Med. Vet. Zootec. 61(3): 613-620.

SINGLEY, J.A.; CHAVIN, W., 1971. Cortisol levels of normal goldfish, *Carassius auratus* L., and response to osmotic change. Am. Zool. 11 (653 pp).

SLADKY, K.K.; SWANSON, C.R.; STOSKOPF, M.K.; LOOMIS, M.R.; LEWBART, G.A., 2001. Comparative efficacy of tricaine methanesulfonate and clove oil for use as anesthetics in red pacu (*Piaractus brachypomus*). American Journal of Veterinary Research, 62, 337-342.

SOARES, M. C., 2000. Influência da Triiodotironina (T3) no metabolismo energético e reprodução induzida do matrinxã (*brycon cephalus*) Gunther, 1869, Teleostei: Characidae. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

SON, M.H. et al., 2001. Anaesthetic tolerance of juvenile black rockfish *Sebastes schlegeli*, produced for wild stock enhancement. Ocean and Polar Research 23: 285-290.

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

SUMMERFELT, R.C.; SMITH, L.S., 1990. Anaesthesia, surgery and related techniques. Em: Schrek, C.B., Moyle, P.B. Methods for fish biology, American Fishery Society, Cap. 8, p. 684.

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

TYTLER, P. e HAWKINS, A.D., 1981. Vivisection, anaesthetics and minor surgery. Em: HAWKINS, A.D. (Ed.), Aquarium System. Academic Press, London. 352 pp.

URBINATI, E.C.; GONÇALVES, F.D., 2005. Pacu (*Piaractus mesopotamicus*). Em: Espécies nativas para piscicultura no Brasil (ed. por B. Baldisseroto & L.C. Gomes), pp.225-246. Editora UFSM, Santa Maria, Brasil.

VAZ, M.M. et al. (Org.), 2000. Guia Ilustrado de peixes da bacia do Rio Grande. Belo Horizonte: Cemig/Cetec, 144p.

VELÍŠEK, J.; VLASTIMIL, S.; KOUŘIL, J.; SVOBODOVÁ, Z. 2006. Effects of Clove Oil Anaesthesia on European Catfish (*Silurus glanis* L.). ACTA VET. BRNO 75: 99–106.

VELÍŠEK, J.; VLASTIMIL, S.; KOUŘIL, J.; SVOBODOVÁ, Z. 2009. Comparison of the effects of four anaesthetics on biochemical blood profiles of perch. Aquaculture Research, 40: 354-361.

VIDAL, L. V. O.; ALBINATI, R. C. B.; ALBINATI, A. C. L.; MECÊDO, G. R. 2006. Utilização do eugenol como anestésico para o manejo de juvenis de Pintado (*Pseudoplatystoma corruscans*). Acta Sci. Biol. Sci. Maringá. 28(3): 275-279.

VIDAL, L. V. O.; FURUYA, W. M.; GRACIANO, T. S.; SCHAMBER, C. R.; SILVA, L. C. R.; SANTOS, L. D.; SOUZA, S. R., 2007a. Eugenol como anestésico para juvenis de matrinxã (*Brycon cephalus*). Rev. Bras. Saúde Prod. An. 8(4): 335-342.

VIDAL, L. V. O.; ALBINATI, R. C. B.; SANTOS NETO, E. B.; DEUS, B. T.; ALBINATI, A. C. L., 2007b. Influência do peso de juvenis de matrinxã (*Brycon cephalus*) e tambaqui (*Colossoma macropomum*) à ação anestésica do eugenol. Rev. Bras. Saúde Prod. An. 8(3): 212-216.

VIDAL, L.V.O.; FURUYA, W. M.; GRACIANO, T.S.; SCHAMBER, C.R.; SANTOS, L.D.; SOARES, C.M., 2007c. Concentrações de Eugenol para anestesia profunda e toxicidade aguda em juvenis de piavuçu (*Leporinus macrocephalus*). Acta Sci. Biol. Sci. 29(4): 357-362.

VIDAL, L. V. O.; ALBINATI, R. C. B.; ALBINATI, A. C. L.; LIRA, A. D.; ALMEIDA, T. R.; SANTOS, G. B., 2008. Eugenol como anestésico para a tilápia-do-nilo. *Pesq. agropec. bras.*, Brasília. 43(8): 1069-1074.

VIEGAS, E.M.M.; CARNEIRO, D.J.; URBINATI, E.C.; MALLHEIROS, E.B., 2008. Farelo de canola em dietas para o pacu *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg 1987): efeitos sobre o crescimento e a composição corporal. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 60(6): 1502-1510.

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

WEBER, R.A., PELETEIRO, J.B., GARCÍA MARTÍN, L.O., ALDEGUNDE, M. 2009. The efficacy of 2-phenoxyethanol, metomidate, clove oil and MS-222 as anaesthetic agents in the Senegalese sole (*Solea senegalensis* Kaup 1858). *Aquaculture*, 288: 147-150.

WEDEMEYER, G.A., MCLEAY, D.J., 1981. Methods for determining the tolerance of fishes to environmental stressors. In: Pickering, A.D. (Ed.), *Stress in Fish*. Academic Press, London, UK, pp. 247–275.

WESTERFIELD, M., 1993. *The Zebrafish Book*. University of Oregon Press, Eugene, OR. 342 pp.

WILLIAMS e WILKINS COMPANY, 1982. *Stedman's medical dictionary*, 24th edition. Baltimore, Maryland, em SUMMERFELT, R.C.; SMITH, L.S. *Anaesthesia, surgery and related techniques*. Em: Schrek, C.B., Moyle, P.B. *methods for fish biology*, cap 8, American Fishery Society, n. 684 p., 1990.

WOYNAROVICH, E.; HORVÁTH, L., 1989. *A propagação artificial de peixes de águas tropicais: manual de extensão*. Tradução por Vera Lúcia Mixtro Chama, Brasília: FAO/CODEVASF/CNPq, 169 p.

ZANIBONI FILHO, E.; REZENDE, E., 1988. Anatomia de gônadas, escala de maturidade e tipo de desova do matrinxã, *Brycon cephalus* (GÜNTHER, 1869) (Teleostei: Characidae). Revista Brasileira Biologia. 48(4): 833-844.

ZIMMERMANN, S., 1999. Incubação artificial: técnica permite a produção de tilapia-nilo geneticamente superiores. Panorama da Aqüicultura, Rio de Janeiro. 9(54): 15-21.

ZIMMERMANN, S., 2000. O bom desempenho das chitraladas no Brasil. Panorama da Aqüicultura, Rio de Janeiro. 10(60): 15-19.