



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
DEPARTAMENTO DE AQUICULTURA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA

**Eugenol para anestesia de espécies nativas de peixes do alto  
Uruguai: piava, jundiá e suruvi**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Aquicultura do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Santa Catarina, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Aquicultura.

Orientador: Alex Pires de Oliveira Nuñez

Rafael Tanganelli Pallamin

Florianópolis  
2014

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,  
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Pallamin, Rafael Tanganelli Pallamin

Eugenol para anestesia de espécies nativas de peixes do alto Uruguai: piava, jundiá e suruvi / Rafael Tanganelli Pallamin Pallamin ; orientador, Alex Pires de Oliveira Nuñez Nuñez - Florianópolis, SC, 2014.

48 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Aquicultura.

Inclui referências

1. Aquicultura. 2. eugenol. 3. indução anestésica. 4. concentrações ideais. 5. piava, jundiá, suruvi. I. Nuñez, Alex Pires de Oliveira Nuñez. II. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Aquicultura. III. Título.

**Eugenol para anestesia de espécies nativas de peixes do alto  
Uruguai: piava, jundiá e suruvi**

Por

RAFAEL TANGANELLI PALLAMIN

Esta dissertação foi julgada adequada para a obtenção do título de

**MESTRE EM AQUICULTURA**

e aprovada em sua forma final pelo Programa de  
Pós-Graduação em Aqüicultura.

---

Prof. Alex Pires de Oliveira Nuñez, Dr.  
Coordenador do Programa

Banca Examinadora:

---

Dr. Alex Pires de Oliveira Nuñez – *Orientador*

---

Dr. Fábio Bittencourt

---

Dr. Giuliano Palemão Carlos Maia Huergo

---

Dr. Vinícius Ronzani Cerqueira



## **DEDICO**

À memória de meus Avós, Astor e Nair.  
Aos meus Pais, Astor Jr. e Carmen Silvia.



## **AGRADECIMENTOS**

Ao professor Alex Pires de Oliveira Nuñer pela confiança, oportunidade, dedicação, grande paciência, amizade e apoio.

A todos os professores e funcionários do Departamento de Aquicultura da Universidade Federal de Santa Catarina, em especial os integrantes do Laboratório de Biologia e Cultivo de Peixes de Água Doce (LAPAD). Lá verdadeiros amigos foram formados.

Pelo apoio de meus pais e irmãos. Aos meus pais, pelos ensinamentos, dedicação, criação, minha formação de cidadão, conselhos, incentivos, oportunidades oferecidas e pela confiança em mim depositada durante toda vida.

À Priscilla, embora longe, esteve presente.

Às pessoas que estiveram presentes durante esta passagem, tanto as que me acompanharam no dia-a-dia, quanto as que de uma forma ou outra me ajudaram e me ensinaram a ser uma pessoa melhor, contribuindo com a minha formação pessoal.

A CAPES, pelo auxílio concedido.



## RESUMO

O uso de anestésicos está relacionado a questões éticas, que preconizam o uso de produtos para evitar ou minimizar o sofrimento dos peixes nas práticas rotineiras em estações de piscicultura e de pesquisa. O eugenol é um agente anestésico que apresenta baixo custo de aquisição, baixa toxicidade aos animais e aos seus manipuladores. O presente estudo avaliou o uso do eugenol em três espécies nativas de peixes da bacia do alto Uruguai: piava, *Leporinus obtusidens* (180,02 ± 59,61g, 25,40 ± 2,02 cm), jundiá, *Rhamdia quelen* (92,88 ± 16,04 g, 19,74 ± 0,96 cm) e o suruvi, *Steindachneridion scriptum* (223,55 ± 36,35 g, 28,88 ± 1,62 cm). As concentrações 37,5; 50,0; 62,5; 75,0; 100,0 e 125,0 foram testadas para as três espécies e, além destas, foram avaliadas as concentrações de 25,0 para a piava, 87,5 e 150,0 para o jundiá e 25,0 e 150,0 para o suruvi. Os testes se basearam em banhos de imersão, onde os peixes de cada tratamento (n=20) foram expostos individualmente ao banho, em aquários de vidro contendo 5 L de solução (água com eugenol). Para cada animal os tempos para indução à anestesia profunda e para a total recuperação foram aferidos. Os animais ficaram em observação durante uma semana após os tratamentos, para avaliação do comportamento e quantificação da mortalidade. As concentrações testadas influenciaram significativamente os tempos de indução, porém não ocorreu o mesmo para o tempo de recuperação. Utilizando-se a premissa de que na concentração ideal o tempo de indução à anestesia deve ser inferior a 3 minutos, e que o tempo de recuperação não deve exceder 5 minutos, as concentrações ideais para piava, jundiá e suruvi foram 39,3, 68,6 e 31,5 mg.L<sup>-1</sup> de eugenol, respectivamente.



## ABSTRACT

Eugenol for anesthesia of native species of fish from upper Uruguay River: piava, jundiá and suruvi.

The use of anesthetics is related to ethical issues, which recommend the use of products to prevent or minimize the suffering of fish in routine practice in fish farming and research stations. The eugenol is an anesthetic agent that presents a low cost, low toxicity to animals and to handlers. This study evaluated the use of eugenol in three native fish species of the upper Uruguay basin: piava *Leporinus obtusidens* (180.02 ± 59.61 g, 25.40 ± 2.02 cm), jundiá, *Rhamdia quelen* (92 , 88 ± 16.04 g, 19.74 ± 0.96 cm) and suruvi, *Steindachneridion scriptum* (223.55 ± 36.35 g, 28.88 ± 1.62 cm). Concentrations 37.5; 50.0; 62.5; 75.0; 100.0 and 125.0 were tested for the three species, and in addition, the concentration 25.0 for piava, 87.5 and 150.0 for jundiá and 25.0 and 150.0 for suruvi were also evaluated. The tests were based on immersion baths, in which fish from each treatment (n=20) were individually exposed to the bath in glass aquaria containing 5 L of solution (water plus eugenol). For each animal the deep anesthesia inducing time and full recovery time were measured. The animals were observed for at least a week after the treatments for behavioral evaluation and mortality quantification. The concentrations tested significantly influenced the induction time but did not influenced the recovery time. Using the assumption that for optimal concentration the induction time to anesthesia should be less than 3 minutes and the recovery time should not exceed 5 minutes, the optimal concentrations for piava, catfish and suruvi were 39.3, 68.6 and 31.5 mg.L<sup>-1</sup> of eugenol, respectively.



## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Regressão entre o tempo de indução à anestesia e a concentração de eugenol ( $Y=18080,1X^{-1,2558}$ ;  $R^2= 0,88$ ), e tempo de recuperação de *Leporinus obtusidens* (piava). ..... 33
- Figura 2. Regressão entre o tempo de indução à anestesia e a concentração de eugenol ( $Y=17896X^{-1,0878}$ ;  $R^2 = 0,79$ ), e tempo de recuperação de *Rhamdia quelen* (jundiá). ..... 35
- Figura 3. Regressão entre o tempo de indução à anestesia e a concentração de eugenol ( $Y=4196,1X^{-0,9128}$ ;  $R^2= 0,91$ ), e tempo de recuperação de *Steindachneridion scriptum* (suruvi). ..... 37



## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Peso total e comprimento total (média $\pm$ desvio-padrão) das diferentes espécies utilizadas nos testes com diferentes concentrações de eugenol. ....	30
Tabela 2. Estágios de indução anestésica, segundo Ross & Ross (1999) .....	31
Tabela 3. Estágios de recuperação anestésica. Modificado por Vidal et al. 2008 de Hikasa et al. (1986). ....	31



## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>19</b>
1.1. EUGENOL COMO ANESTÉSICO .....	21
1.2. ESPÉCIES UTILIZADAS.....	22
<b>2. JUSTIFICATIVA .....</b>	<b>23</b>
<b>3. OBJETIVO GERAL.....</b>	<b>24</b>
3.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	24
<b>4. ARTIGO CIENTÍFICO .....</b>	<b>25</b>
<b>EUGENOL FOR ANESTHESIA OF NATIVE SPECIES OF FISHES FROM URUGUAY RIVER: <i>LEPORINUS OBTUSIDENS</i>, <i>RHAMDIA QUELEN</i> AND <i>STEINDACHNERIDION SCRIPTUM</i>.....</b>	<b>25</b>
ABSTRACT.....	26
RESUMO.....	27
INTRODUÇÃO .....	28
MATERIAL E MÉTODOS .....	29
RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	32
Piava - <i>Leporinus obtusidens</i> .....	32
Jundiá - <i>Rhamdia quelen</i> .....	34
Suruvi - <i>Steindachneridion scriptum</i> .....	36
CONCLUSÃO .....	37
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	37
<b>5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DA INTRODUÇÃO..</b>	<b>41</b>
<b>Anexo I .....</b>	<b>46</b>
<b>Anexo II.....</b>	<b>47</b>
<b>Anexo III .....</b>	<b>47</b>
<b>Anexo IV .....</b>	<b>48</b>



## 1. INTRODUÇÃO

A alta produtividade na criação de animais geralmente não tem sido compatível com práticas que visem o bem-estar dos mesmos (VOLPATO, 2007). A fim de diminuir possíveis efeitos adversos que as técnicas utilizadas para obtenção desta produtividade possam induzir aos animais indica-se o uso de anestésicos, de modo que o seu uso atende a questões éticas que preconizam a utilização de produtos para evitar ou minimizar o sofrimento dos peixes nas práticas rotineiras nas estações de piscicultura (HUBBEL et al., 1989; ROSS & ROSS, 2008).

Os efeitos do estresse têm início com a liberação de corticosteroides (cortisol) e catecolaminas (adrenalina e noradrenalina) no sangue. Estes são seguidos pelo aumento dos níveis de cortisol, glicose e lactato no sangue. Com isso, ocorre diminuição do número de leucócitos e de linfócitos, e aumento do número de neutrófilos circulantes, o que também contribui para a redução da resistência dos peixes às doenças (MAZEAUD et al., 1977 apud TAKEUCHI, 2012). Também podem ocorrer diversas alterações corporais, como a inibição ao crescimento, distúrbios no ciclo reprodutivo e no estado imunológico dos peixes (IWAMA et al., 2005).

Diversos estudos comprovaram que a utilização de anestésicos reduz a concentração de corticoides e de catecolaminas na circulação sanguínea durante manejos estressantes, interferindo sobre o eixo hipotálamo-hipófise-inter-renal e funcionando como mitigador para as respostas ao estresse (PALIC et al., 2006). Deste modo, estudos com anestésicos são indispensáveis para que o estresse do manejo em peixes seja reduzido.

Em peixes normalmente os anestésicos são administrados por meio de banhos em soluções anestésicas, que são absorvidas e eliminadas pelas brânquias (HONCZARYK & INOUE, 2009). Esse autores afirmaram ainda que, em alguns casos particulares, como o de *Arapaima gigas*, não são utilizados banhos, pois o animal pode morrer por afogamento, sendo então utilizada a aspersão de soluções anestésicas diretamente nas brânquias (HONCZARYK & INOUE, 2009).

A escolha do anestésico deve estar baseada em critérios como eficácia do produto, custo de aquisição, disponibilidade no mercado, segurança de uso e os possíveis efeitos colaterais do produto nos peixes, nos seres humanos e no ambiente (MARKING & MEYER, 1985; IVERSEN et al., 2003). Portanto, faz-se necessário, identificar quais são

as concentrações seguras de cada agente anestésico, evitando assim alterações metabólicas que possam interferir no crescimento, na reprodução ou causar morte por superdosagem, além de evitar o desperdício do produto, reduzindo assim os custos de produção (SUMMERFELT e SMITH, 1990; ROUBACH & GOMES, 2001; PARK et al., 2008).

A falta de conhecimento sobre as concentrações do anestésico e o tempo de exposição para cada espécie são fatores limitantes do uso destes produtos na aquicultura (GIMBO et al., 2008). Deste modo, a avaliação da relação entre a concentração do anestésico e o tempo de indução à anestesia apresenta especial relevância para o uso e a escolha do produto.

Segundo Zahl et al. (2009), a taxa de absorção dos agentes anestésicos está relacionada às suas propriedades físico-químicas, a fatores respiratórios e à quantidade de sangue que circula pelas brânquias, que também influenciam os tempos de indução e recuperação anestésica. Estes autores citam, ainda, que a eficácia anestésica é influenciada por fatores diversos, como a espécie, a idade, o tamanho, o sexo, as doses e por também por fatores ambientais, como a temperatura da água.

O agente anestésico considerado ideal deve produzir anestesia no tempo máximo de três minutos, com tempo de recuperação máximo de até cinco minutos (MARKING & MEYER, 1985), deve ser eficaz em baixas concentrações e apresentar toxicidade em doses muito superiores às efetivas (MARKING & MEYER, 1985; ROSS & ROSS, 2008).

Muitos produtos químicos são utilizados para anestesiarem peixes. No Brasil são utilizados o MS-222 (tricaína metano sulfonato), a benzocaína (ethyl-p-aminobenzoato), a quinaldina (2-4-metilquinolina) ou a quinaldina sulfato (sulfato de 2-4-metilquinolina), o 2-fenoxietanol (Sigma®) ou etileno glicol éter fenil éter – C<sub>8</sub>H<sub>10</sub>O<sub>2</sub> (Merck®) e o mentol (ROUBACH & GOMES, 2001), porém não existe legislação que regulamente o seu uso destes produtos para peixes no país. Por essa razão são adotadas as recomendações da Food and Drug Administration (FDA), que aprova o uso do MS-222 em peixes destinados ao consumo humano nos Estados Unidos (ROUBACH & GOMES, 2001; NOCHETTO et al., 2009).

Ainda segundo a FDA, os animais que são tratados com esse químico só podem ser consumidos 21 dias após contato com o produto. Como o MS-222 não é produzido no Brasil, o custo para sua aquisição é elevado, o que dificulta a sua utilização.

## 1.1. EUGENOL COMO ANESTÉSICO

A necessidade de se buscar alternativas seguras para os procedimentos de anestesia de peixes no Brasil, subsidiando as autoridades responsáveis por este tipo de regulamentação, conduz à realização de estudos utilizando anestésicos alternativos (FAÇANHA & GOMES, 2005).

Entre as alternativas disponíveis no mercado brasileiro encontra-se o eugenol, que é uma substância eficaz, segura e de baixo custo, adequada para o meio ambiente e para os manipuladores, sem riscos aparentes de intoxicação (ROUBACH et al., 2001; INOUE et al., 2003; IVERSEN et al., 2003).

O composto fenólico eugenol (4-alil-2- metoxifenol;  $C_{10}H_{12}O_2$ ) é uma substância ativa que atua como depressor do sistema nervoso central (ANDERSON et al., 1997), cuja concentração varia de 70 a 95% da composição total do óleo essencial do cravo-da-índia *Syzygium aromaticum* (MAZZAFERA, 2003), obtido pela destilação das folhas e flores (incluindo talos) desta árvore. O eugenol é utilizado principalmente na odontologia e na medicina como antisséptico, analgésico e agente anestésico (DAVIDSON et al., 2000).

Estudos foram realizados testando doses de eugenol em diferentes espécies de peixes. Gonçalves et al. (2008), trabalhando com juvenis de *Piaractus mesopotamicus*, concluíram que o eugenol seria um anestésico eficiente em substituição à benzocaína. Para juvenis de pintado, *Pseudoplatystoma corruscans* (27,7 g) o eugenol foi testado nas concentrações de 25, 50, 75 e 100  $mg.L^{-1}$ , sendo que 50  $mg.L^{-1}$  foi considerada a mais adequada para procedimentos usuais no manejo (VIDAL et al., 2006). Para juvenis de, *Brycon cephalus* (3,3 g) submetidos as concentrações 50, 62,5, 75, 100, 125, 150, 175 e 200  $mg.L^{-1}$ , Vidal et al. (2007) indicaram concentrações de 50 até 100  $mg.L^{-1}$ , como as melhores doses para a indução de anestesia profunda. Para tilápia-do-Nilo, *Oreochromis niloticus* (5,3 g), foram testadas as concentração de 75, 100, 150, 200, 250 e 300  $mg.L^{-1}$ , sendo que a concentração de 75  $mg.L^{-1}$  foi considerada ideal para causar anestesia profunda de curta duração (VIDAL et al., 2008).

Cunha et al. (2010), testaram o tempo para indução, resposta ao cortisol e análise sensorial do filé em *Rhamdia quelen*, e observaram que peixes anestesiados (eugenol/50 $mg.L^{-1}$ ) apresentaram níveis significativamente mais baixos do cortisol plasmático do que peixes do grupo de controle, provando ser este um inibidor do aumento do cortisol

no sangue. Porém, o teste sensorial demonstrou que o eugenol modifica o sabor dos filés e conseqüentemente é contra-indicado para a anestesia quando o animal for destinado ao consumo humano. Estes fatos mostram a falta de estudos relacionados à utilização do eugenol para peixes, como, por exemplo, a possibilidade da determinação de um tempo de carência para o consumo dos peixes tratados e as respostas para cada espécie.

## 1.2. ESPÉCIES UTILIZADAS

Ainda que o Brasil apresente grande diversidade de espécies de peixes, sendo muitas aptas para piscicultura (WEINGARTNER et al., 2008), existem poucas informações sobre as técnicas de manejo mais adequadas para o cultivo de espécies nativas de peixes, no entanto, o estudo com estas tem aumentado nos últimos anos devido ao crescente interesse pela sua criação (CRESCÊNCIO, 2005).

A piava *Leporinus obtusidens* (Valenciennes, 1847) pertence a família Anostomidae, ordem Characiformes, e é encontrada nas Bacias do São Francisco, do Paraná (GARAVELLO, 1979) e do Uruguai (ZANIBONI-FILHO & SCHULZ, 2003). Na Bacia do Rio Uruguai, apresenta elevada importância recreacional e comercial, tanto para pesca como para o cultivo (ZANIBONI-FILHO et al., 2004). A alimentação dos juvenis e adultos é diversificada, sendo considerada uma espécie onívora, alimentando-se de sementes, insetos aquáticos, crustáceos e moluscos (ZANIBONI-FILHO et al., 2002).

O jundiá, *Rhamdia quelen* (Quoy & Gaimard, 1824), anteriormente foi classificado dentro da família Pimelodidae, porém após revisão taxonômica de Bockmann & Guazzelli (2003), atualmente está classificado na família Heptapteridae, da ordem Siluriformes. Esta espécie apresenta ampla distribuição geográfica, ocorrendo desde a região central da Argentina até o sudeste do México (SILFVERGRIP, 1996). Vive em lagos e poços fundos dos rios, preferindo ambientes de águas calmas, com fundo de areia e lama, junto às margens e vegetação. Escondem-se entre pedras e troncos, de onde saem à noite, à procura de alimento (GUEDES, 1980). O jundiá apresenta grande importância para a pesca e piscicultura, sendo a espécie nativa mais cultivada na região Sul do Brasil (ZANIBONI-FILHO et al., 2004).

A produção nacional de jundiá cultivado vem crescendo, sendo que em 2011 foram produzidas 1.747,3 toneladas (MPA, 2011). Com boa aceitação para consumo no sul do Brasil, teve produção anual de

756.748 kg pela piscicultura continental no Estado de Santa Catarina em 2011, passando de uma representação percentual de 1,8% em 2010 para uma representação de 2,5% no ano de 2011, o que em termos numéricos equivale a 172 toneladas a mais sobre o ano anterior (SILVEIRA et al., 2012).

O suruvi, *Steindachneridion scriptum* (Ribeiro 1918), também conhecido como suruvi ou bocudo, está classificada na família Pimelodidae, ordem Siluriformes, e é uma espécie de grande porte nativa da bacia do alto rio Uruguai e do alto rio Paraná (GARAVELLO, 2005). Apresenta hábito alimentar predominantemente piscívoro, mantendo sua alimentação mesmo em temperaturas mais baixas, como as registradas no Sul do Brasil, e se destaca pela qualidade da carne e pelo comportamento dócil no cativeiro (MEURER e ZANIBONI-FILHO, 2000).

Alguns estudos já foram desenvolvidos com essas espécies, contribuindo para a determinação de algumas das condições adequadas para a sua criação, no entanto, muitas informações ainda precisam ser geradas para o desenvolvimento de um pacote tecnológico de produção.

## 2. JUSTIFICATIVA

A piava, o jundiá e o suruvi, são espécies de peixe encontradas na região do alto rio Uruguai, que apresentam características zootécnicas importantes para a piscicultura, como o porte que atingem e a adaptação às variações climática da região sul do Brasil. Além disso, apresentam bom valor de mercado, geralmente conferido pela qualidade e sabor da carne e ampla aceitação do mercado consumidor. Para o cultivo destas espécies, no entanto, ainda faltam informações sobre o manejo para produção, assim como para o uso de anestésicos durante os manejos.

O eugenol é um anestésico de fácil aquisição, de baixo custo, que vem demonstrando ser eficiente e seguro, além de não produzir efeitos adversos durante seu manuseio. O presente estudo avalia a eficiência do eugenol como anestésico para *Leporinus obtusidens*, *Rhamdia quelen* e *Steindachneridion scriptum*, e determina as concentrações ideais para indução e para recuperação à anestesia. Estas informações são de fundamental importância para a correta utilização deste produto, tanto em nível de produção comercial destas espécies quanto em nível de pesquisa, que também poderá ser utilizado como referência para futuros estudos para com espécies nativas semelhantes.

### **3. OBJETIVO GERAL**

Avaliar a eficiência anestésica do eugenol nas espécies *Leporinus obtusidens*, *Rhamdia quelen* e *Steindachneridion scriptum*.

#### **3.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Analisar os tempos/estágios de indução e recuperação anestésicos nas diferentes concentrações testadas.
- Determinar a concentração ideal de eugenol para as espécies selecionadas.

#### 4. ARTIGO CIENTÍFICO

EUGENOL COMO ANESTÉSICO PARA PEIXES NATIVOS DO  
ALTO RIO URUGUAI: *LEPORINUS OBTUSIDENS*, *RHAMDIA*  
*QUELEN* E *STEINDACHNERIDION SCRIPTUM*

EUGENOL FOR ANESTHESIA OF NATIVE SPECIES OF FISHES  
FROM UPPER URUGUAY RIVER: *LEPORINUS OBTUSIDENS*,  
*RHAMDIA QUELEN* AND *STEINDACHNERIDION SCRIPTUM*

Este trabalho está redigido nas normas da revista  
Ciência e Agrotecnologia (Qualis B1)

Rafael Tanganelli Pallamin  
Alex Pires de Oliveira Nuñez

**ABSTRACT**

The use of anesthetics is related to ethical issues, which recommend the use of products to prevent or minimize the suffering of fish in routine practice in fish farming and research stations. The eugenol is an anesthetic agent that presents a low cost, low toxicity to animals and to handlers. This study evaluated the use of eugenol in three native fish species of the upper Uruguay basin: piava *Leporinus obtusidens* ( $180.02 \pm 59.61$  g,  $25.40 \pm 2.02$  cm), jundiá, *Rhamdia quelen* ( $92.88 \pm 16.04$  g,  $19.74 \pm 0.96$  cm) and suruvi, *Steindachneridion scriptum* ( $223.55 \pm 36.35$  g,  $28.88 \pm 1.62$  cm). Concentrations 37.5; 50.0; 62.5; 75.0; 100.0 and 125.0 were tested for the three species, and in addition, the concentration 25.0 for piava, 87.5 and 150.0 for jundiá and 25.0 and 150.0 for suruvi were also evaluated. The tests were based on immersion baths, in which fish from each treatment (n=20) were individually exposed to the bath in glass aquaria containing 5 L of solution (water plus eugenol). For each animal the deep anesthesia inducing time and full recovery time were measured. The animals were observed for at least a week after the treatments for behavioral evaluation and mortality quantification. The concentrations tested significantly influenced the induction time but did not influenced the recovery time. Using the assumption that for optimal concentration the induction time to anesthesia should be less than 3 minutes and the recovery time should not exceed 5 minutes, the optimal mg.L<sup>-1</sup> concentrations for piava, catfish and suruvi were 39.3, 68.6 and 31.5 mg.L<sup>-1</sup> of eugenol, respectively.

INDEX TERMS: clove oil, anesthetic, piava, jundiá, suruvi.

## RESUMO

O uso de anestésicos está relacionado a questões éticas, que preconizam o uso de produtos para evitar ou minimizar o sofrimento dos peixes nas práticas rotineiras em estações de piscicultura e de pesquisa. O eugenol é um agente anestésico que apresenta baixo custo de aquisição, baixa toxicidade aos animais e aos seus manipuladores. O presente estudo avaliou o uso do eugenol em três espécies nativas de peixes da bacia do alto Uruguai: piava, *Leporinus obtusidens* ( $180,02 \pm 59,61$ g,  $25,40 \pm 2,02$  cm), jundiá, *Rhamdia quelen* ( $92,88 \pm 16,04$  g,  $19,74 \pm 0,96$  cm) e o suruvi, *Steindachneridion scriptum* ( $223,55 \pm 36,35$  g,  $28,88 \pm 1,62$  cm). As concentrações 37,5; 50,0; 62,5; 75,0; 100,0 e 125,0 foram testadas para as três espécies e, além destas, foram avaliadas as concentrações de 25,0 para a piava, 87,5 e 150,0 para o jundiá e 25,0 e 150,0 para o suruvi. Os testes se basearam em banhos de imersão, onde os peixes de cada tratamento ( $n=20$ ) foram expostos individualmente ao banho, em aquários de vidro contendo 5 L de solução (água com eugenol). Para cada animal os tempos para indução à anestesia profunda e para a total recuperação foram aferidos. Os animais ficaram em observação durante uma semana após os tratamentos, para avaliação do comportamento e quantificação da mortalidade. As concentrações testadas influenciaram significativamente os tempos de indução, porém não ocorreu o mesmo para o tempo de recuperação. Utilizando-se a premissa de que na concentração ideal o tempo de indução à anestesia deve ser inferior a 3 minutos, e que o tempo de recuperação não deve exceder 5 minutos, as concentrações ideais para piava, jundiá e suruvi foram 39,3, 68,6 e 31,5 mg.L<sup>-1</sup> de eugenol, respectivamente.

**TERMOS PARA INDEXAÇÃO:** óleo-de-cravo, anestésico, piava, jundiá, suruvi.

## INTRODUÇÃO

Os peixes cultivados são frequentemente submetidos a manejos que produzem estresse, sendo que diversos estudos demonstram a redução deste através da utilização de agentes anestésicos (PALIC et al., 2006). O uso de anestésicos atende a questões éticas, que preconizam o uso de produtos para evitar ou minimizar o sofrimento dos peixes nas práticas rotineiras nas estações de piscicultura e nos laboratórios de biologia de peixes (DERIGGI et al., 2006).

A escolha de um anestésico deve ter por base alguns critérios, como a eficácia do produto, o custo para sua aquisição, a disponibilidade no mercado, a segurança de uso e os possíveis efeitos colaterais para os peixes, seres humanos e ambiente. É necessário, portanto, conhecer as concentrações seguras de cada anestésico, evitando assim alterações metabólicas que possam interferir no crescimento, na reprodução ou causar a morte por superdosagem, além de evitar o desperdício do produto, reduzindo assim os custos de produção (SUMMERFELT & SMITH, 1990; ROUBACH & GOMES, 2001; PARK et al., 2008).

No Brasil não existe legislação que regulamente o uso de anestésicos para peixes. Por essa razão são adotadas as recomendações da Food and Drug Administration (FDA), que aprova o uso do MS-222 em peixes destinados ao consumo humano nos Estados Unidos (ROUBACH & GOMES, 2001). Segundo a FDA os animais que são tratados com esse químico só podem ser consumidos 21 dias após uso do produto. Como o MS-222 não é produzido no Brasil, o custo para sua aquisição é elevado, o que dificulta a sua utilização.

São importantes as informações relacionadas ao uso de anestésicos para as espécies nativas de peixes, muitas vezes essas ainda não existem ou estão incompletas.

O eugenol é uma substância natural eficaz como anestésico, segura e de baixo custo, que não causa danos para o meio ambiente e para os manipuladores, sem riscos aparentes de intoxicação. O composto fenólico eugenol (4-alil-2-metoxifenol- $C_{10}H_{12}O_2$ ) é uma substância ativa, que atua como depressor do sistema nervoso central (ANDERSON et al., 1997), cuja concentração varia de 70 a 95% da composição total do óleo essencial do cravo-da-índia *Syzygium aromaticum* (MAZZAFERA, 2003).

O presente estudo avalia a eficiência do eugenol como anestésico nestas espécies, determinando-se assim as concentrações ideais para indução e recuperação à anestesia destas.

Deste modo, o presente estudo tem como objetivo avaliar a eficiência da utilização do eugenol, através da análise dos estágios/tempos de indução e recuperação à anestesia, e determinar as concentrações ideais para *Leporinus obtusidens* (piava), *Rhamdia quelen* (jundiá) e *Steindachneridion scriptum* (suruvi). Estas informações são de fundamental importância para suprir informações da correta utilização do produto, tanto em nível de produção quanto em nível de pesquisa, servindo também como referência para futuros estudos.

## MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado no Laboratório de Biologia e Cultivo de Peixes de Água Doce (LAPAD), do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Santa Catarina. Os experimentos utilizaram o delineamento inteiramente ao acaso, com 20 repetições por tratamento, e neles foram utilizados juvenis das espécies piava (*L. obtusidens*), jundiá (*R. quelen*) e suruvi (*S. scriptum*), cujo peso total e comprimento total (média  $\pm$  desvio-padrão) estão apresentados na Tabela 1.

Os animais foram mantidos em lotes com peixes de tamanho semelhante, em tanques de 1.000 L conectados a um sistema de recirculação de água com temperatura e aeração constantes, além de filtração mecânica e biológica.

*R. quelen* e *S. scriptum* foram mantidos em um sistema com água na salinidade 2,0‰, produzida com adição de cloreto de sódio, na temperatura de 25°C. Esta baixa salinidade foi utilizada para a prevenção de patógenos. *L. obtusidens* foi mantida em sistema de recirculação de água doce, na temperatura de 27°C.

Os animais foram alimentados com ração comercial contendo 36% de proteína bruta, oferecida duas vezes ao dia até a saciedade aparente, sendo que antes dos testes os peixes foram mantidos em jejum por 24 horas.

**Tabela 1.** Peso total e comprimento total (média  $\pm$  desvio-padrão) das espécies utilizadas nos testes com diferentes concentrações de eugenol.

Espécie	Peso total (g)	Comprimento total (cm)
<i>Leporinus obtusidens</i>	180,0 $\pm$ 59,6	25,4 $\pm$ 2,0
<i>Rhamdia quelen</i>	92,9 $\pm$ 16,0	19,7 $\pm$ 1,0
<i>Steindachneridion scriptum</i>	223,5 $\pm$ 36,4	28,9 $\pm$ 1,6

Um experimento piloto com um pequeno número de animais por espécie foi conduzido para se estipular as doses mínimas em que cada espécie iniciou a resposta anestésica ao eugenol (Eugenol, Iodontosul<sup>®</sup>, Porto Alegre, Brasil). A partir dele foram definidas as concentrações 37,5; 50,0; 62,5; 75,0; 100,0 e 125,0 para as três espécies e, além destas, foram as concentrações de 25,0 para a piava, 25,0 e 150,0 para o suruvi e 87,5 e 150,0 para o jundiá.

Devido à natureza oleosa do eugenol, as concentrações utilizadas foram obtidas a partir da diluição do anestésico em álcool etílico, formando uma solução-estoque com concentração 100 mg.mL<sup>-1</sup> (VIDAL et al., 2008).

Para cada concentração testada, peixes foram retirados aleatoriamente dos tanques, e submetidos individualmente a um banho de imersão, em aquários de vidro com volume útil de 20 L, contendo 5 L da solução (água com eugenol). Cada peixe foi utilizado uma única vez, sendo que durante os testes foi mantida aeração constante e a mesma temperatura do sistema em que os peixes estavam mantidos.

Um grupo controle também foi utilizado para cada espécie, e nele os animais foram mantidos em água sem agente anestésico, para monitoramento dos parâmetros comportamentais e da mortalidade que poderia estar relacionada aos procedimentos experimentais.

Utilizando-se a proposta metodológica de Ross & Ross (1999) para caracterizar os estágios de anestesia, foi cronometrado o tempo que cada animal utilizou para atingir o estágio V, conhecido como estágio de anestesia profunda (Tabela 2).

Foi definido também um tempo limite para aferição, no qual o animal que não atingiu o estágio de anestesia profunda após 6 minutos foi classificado no estágio de anestesia (Tabela 2) que se encontrava naquele momento.

Após a indução à anestesia foi realizada biometria dos animais e em seguida os mesmos foram transferidos para aquários com água sem anestésico para determinação do tempo de recuperação. Este tempo foi

registrado quando se obteve total recuperação do equilíbrio e capacidade normal de natação, indicada pelo estágio V dos critérios estabelecidos por Hikasa et al. (1986), modificado por Vidal et al. 2008 (Tabela 3).

**Tabela 2.** Estágios de indução anestésica, segundo Ross & Ross (1999).

Estágio	Resposta comportamental
I	Normal (peixes com reação a estímulos externos, batimentos operculares normais, reação muscular normal)
II	Sedação leve (peixes com reação a estímulos externos, movimentos reduzidos, batimentos operculares mais lentos, equilíbrio normal)
III	Sedação profunda (perda total da reação aos estímulos externos exceto forte pressão, leve queda do movimento opercular, equilíbrio normal)
IV	Narcole (perda parcial do tônus muscular, natação errática, aumento dos movimentos operculares, reação apenas a forte estímulo tátil ou vibração)
V	Anestesia profunda (perda total de tônus muscular, perda total de equilíbrio, batimento opercular lento, porém regular)
VI	Anestesia cirúrgica (ausência total de reação, mesmo a forte estímulo, movimentos operculares lentos e irregulares, batimentos cardíacos lentos, perda total de todos os reflexos)
VII	Colapso medular (parada da ventilação, parada cardíaca, morte eventual)

**Tabela 3.** Estágios de recuperação anestésica. Modificado de Hikasa et al. (1986) por Vidal et al. (2008).

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

Com base nestes resultados foi definida a concentração ideal, tendo-se como premissa que o anestésico deve produzir anestesia em doses mínimas do produto dentro do tempo máximo de três minutos, com tempo de recuperação anestésica de até cinco minutos (MARKING & MEYER, 1985). A dose ideal para o tempo de indução à anestesia foi obtida a partir da análise de regressão entre o tempo de indução da anestesia e a concentração de eugenol, obtida através do programa Curve Expert Professional, versão 2.0.3 (HYAMS, 2013).

Após a recuperação os peixes de cada tratamento foram mantidos em observação durante um período pós-tratamento de uma semana, para avaliação comportamental e registro de mortalidade.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante os testes e período pós-tratamento não foi registrada mortalidade em nenhuma das espécies. No pós-tratamento os animais apresentaram natação normal e captura efetiva de alimento.

Observou-se que para o suruvi foram necessárias as menores doses para indução à anestesia, seguido pela piava e por último o jundiá. Para todos os tratamentos onde ocorreu indução à anestesia profunda, o tempo de recuperação não excedeu o máximo de 5 minutos, conforme Marking & Meyer (1985).

### Piava - *Leporinus obtusidens*

A menor concentração testada ( $25 \text{ mg.L}^{-1}$ ) não produziu anestesia profunda nos animais, pois dentro do tempo limite estabelecido de 6 minutos atingiram os animais atingiram o estágio de narcose (Tabela 2). Porém, a partir desta concentração todas as demais produziram anestesia profunda, com tempos de recuperação sempre inferiores a 5 minutos.

Os peixes apresentaram reação de hiperatividade ao primeiro contato com o anestésico, evidenciada pela rápida movimentação no aquário, que foi diminuindo à medida que o anestésico começava a fazer efeito. Vidal et al. (2007a) e Vidal et al. (2007b) observaram o mesmo comportamento para *Leporinus macrocephalus* ( $1,77 \pm 0,69 \text{ g}$ ) e para *Brycon cephalus* ( $3,31 \pm 0,57 \text{ g}$ ).

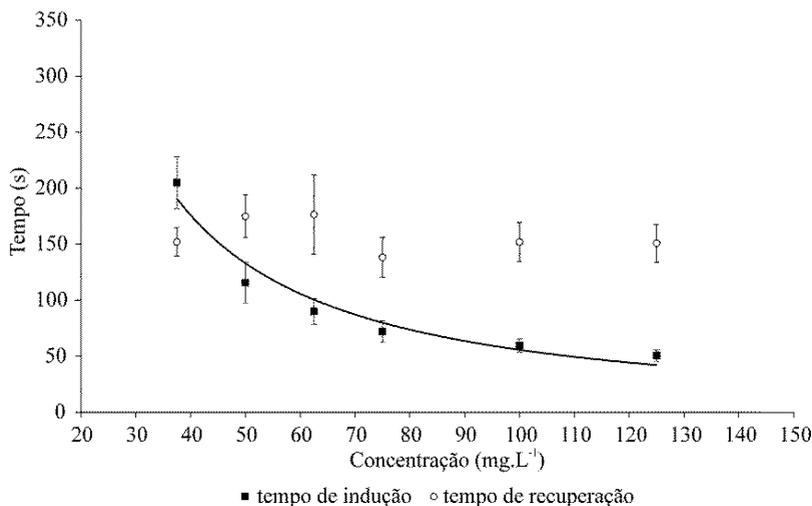
Durante a indução anestésica *L. obtusidens* apresentou, o seguinte comportamento, similar ao relatado por Vidal et al. (2008), testando o eugenol como anestésico para *Oreochromis niloticus*: hiperatividade ao primeiro contato com o anestésico; natação lenta; parada do animal na

posição dorso ventral, em alguns casos, com leve inclinação para um dos lados; perda da reação aos estímulos externos e perda do tônus muscular.

Nas concentrações mais elevadas, a passagem gradativa por essas respostas comportamentais não foi evidente, provavelmente devido à velocidade de ação do eugenol, condição também foi registrada para *R. quelen* e *S. scriptum*.

Na dose de 37,5 mg.L<sup>-1</sup> o tempo médio para os animais atingirem o estágio de anestesia profunda ultrapassou 3 minutos, tendo sido observada redução significativa do tempo de indução anestésica com o aumento das dosagens até 100 mg.L<sup>-1</sup>, sendo que a partir desta concentração o tempo de indução não foi alterado.

A relação entre o tempo de indução à anestesia e as concentrações de eugenol para piava (Figura 1), está representada pela equação  $Y=18080,1X^{-1,2558}$  ( $p < 0,01$ ;  $R^2= 0,88$ ).



**Figura 1.** Regressão entre o tempo de indução à anestesia e a concentração de eugenol ( $Y=18080,1X^{-1,2558}$ ;  $R^2= 0,88$ ), e entre o tempo de indução à anestesia e o tempo de recuperação de *Leporinus obtusidens* (piava).

Considerando-se como 3 minutos o tempo máximo determinado para indução, calculou-se como 39,3 mg.L<sup>-1</sup> a dose ideal de eugenol para a piava, valor muito próximo ao recomendado por Vidal et al.

(2007a) para anestesia profunda de *Leporinus macrocephalus* ( $1,77 \pm 0,69$  g), que foi de  $37,5 \text{ mg.L}^{-1}$ , nota-se a diferença de tamanho para a espécie do mesmo gênero estudada neste trabalho *Leporinus obtusidens* ( $180,02 \pm 59,61$ g). Diemer et al. (2012), testando eugenol para *Rhamdia voulezi* de diferentes classes de tamanho, obtiveram período de indução bastante próximo nos peixes das menores classes e nos das maiores classes.

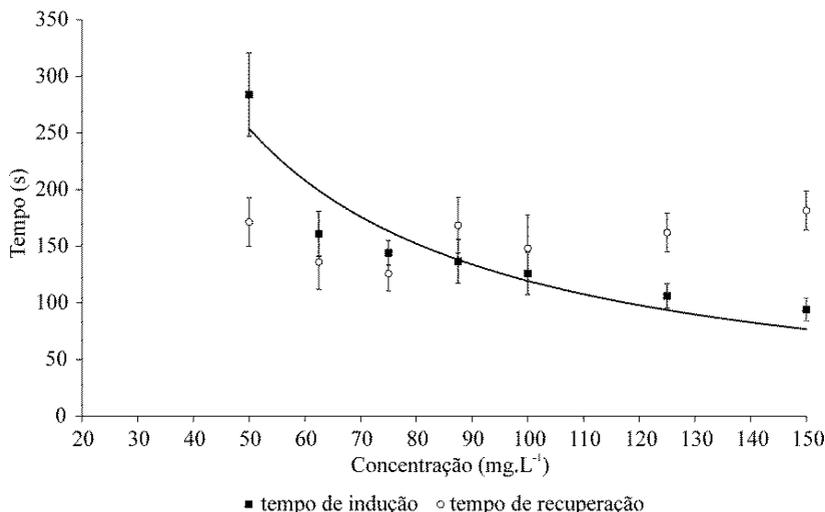
O mesmo foi registrado por Vidal et al. (2007c), que estudaram a influência do peso em juvenis de matrinxã (*Brycon cephalus*), entre 3,08 e 38,45 g, e juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum*), entre 1,32 e 33,03 g, Utilizando uma dose de  $50 \text{ mg.L}^{-1}$ , estes autores concluíram que não houve influência do peso corporal de juvenis de matrinxã e de tambaqui sobre o tempo de indução.

### **Jundiá - *Rhamdia quelen***

Os peixes recém-introduzidos no aquário contendo a solução com eugenol também apresentaram hiperatividade, demonstrando comportamento de “tosse” com reflexo de regurgitação. Este comportamento também foi descrito por Grush et al. (2004) em *Danio rerio* e por Vidal et al. (2006) em juvenis de *Pseudoplatystoma corruscans*.

O jundiá foi a espécie na qual foram utilizadas maiores doses de eugenol para que os animais atingissem o estágio de anestesia profunda. A dose  $37,5 \text{ mg.L}^{-1}$  não produziu este efeito dentro do tempo limite estabelecido, uma vez que os animais ainda se encontravam em estágio de narcose (Tabela 2), mesma condição observada para as piavas sob  $25 \text{ mg.L}^{-1}$  de eugenol. Com o aumento das dosagens foi registrada redução significativa do tempo de indução anestésica, sendo que em todas as concentrações o tempo de recuperação foi inferior ao ideal (5 minutos). A redução do tempo necessário para a anestesia de peixes, à medida que se elevaram as concentrações de eugenol também foi registrada por outros autores (INOUE et al., 2003; VIDAL et al., 2006; VIDAL et al., 2007b; DIEMER et al. 2012; RIBEIRO et al., 2013).

O modelo matemático ajustado para representar o tempo de indução em diferentes concentrações de eugenol para o jundiá (Figura 2) foi  $Y=17896X^{-1,0878}$  ( $p < 0,01$ ;  $R^2 = 0,79$ ). Os tempos de recuperação não excederem os 5 minutos propostos, de modo que a dose ideal para o tempo de indução de 3 minutos foi estimada em  $68,6 \text{ mg.L}^{-1}$ .



**Figura 2.** Regressão entre o tempo de indução à anestesia e a concentração de eugenol ( $Y=17896X^{-1,0878}$ ;  $R^2 = 0,79$ ), e tempo de recuperação de *Rhamdia quelen* (jundiá).

Diemer et al. (2012) testaram o efeito anestésico do eugenol para *Rhamdia voulezi*, utilizando cinco diferentes classes de peso: 32,5; 75,0; 150,0; 300,0 e 450,0g e quatro concentrações de eugenol 50, 75, 100 e 125 mg.L<sup>-1</sup>. Em todas as concentrações avaliadas os peixes atingiram ausência de reação a qualquer estímulo. O mesmo ocorreu neste para o Jundiá a partir da concentração de 50 mg / L<sup>-1</sup> eugenol.

Cunha et al. (2010), avaliaram o tempo de indução, a resposta ao cortisol e a análise sensorial do filé em *Rhamdia quelen* tratados com o eugenol. Na concentração de 50 mg.L<sup>-1</sup> os autores obtiveram tempo de indução de  $206,4 \pm 22,5$  s para indivíduos de 2,1 g, e de  $243,2 \pm 19,4$  s para animais com 177,0 g. No presente estudo jundiás com  $92,9 \pm 16,04$  g submetidos à mesma dosagem de eugenol foram induzidos à anestesia com  $238,8 \pm 36,8$  s.

A regressão entre o tempo de indução e a concentração de eugenol corrobora modelos matemáticos encontrados por outros autores (INOUE et al., 2003; VIDAL et al., 2007b; RIBEIRO et al., 2013), nos quais também foi registrada redução acentuada nas primeiras concentrações, com a tendência à estabilização nas maiores concentrações.

O aumento das concentrações influenciou significativamente o tempo de indução à anestesia, porém, assim como registrado por Vidal et al. (2006) e Vidal et al. (2007b), foram observados maiores desvios para o tempo de recuperação.

### **Suruvi - *Steindachneridion scriptum***

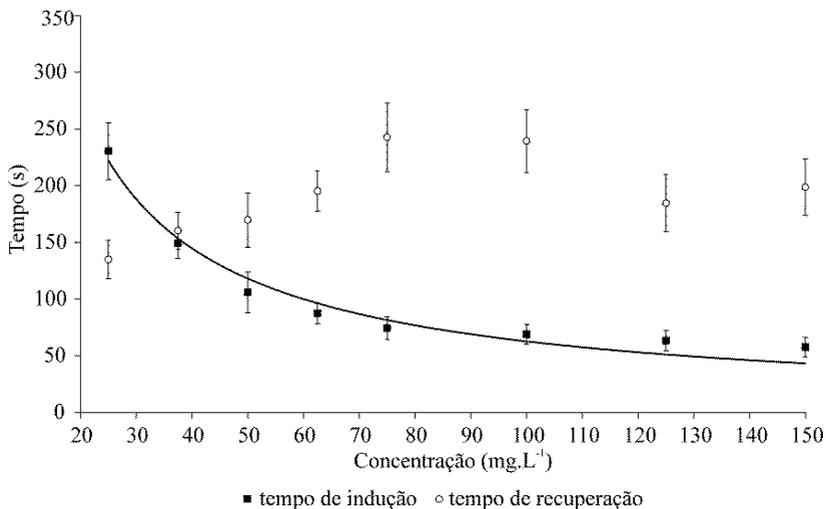
Os suruvis estocados no aquário contendo a solução com eugenol apresentaram inicialmente rápida movimentação, demonstrando comportamento de tosse e reflexo de regurgitação, ou seja, comportamentos similares aos apresentados pelo jundiá.

Comparado ao jundiá, o suruvi necessitou de menor tempo para ser induzido à anestesia profunda, sendo que em todas as doses testadas os animais atingiram este estágio porém, na menor concentração (25 mg L<sup>-1</sup>eugenol), o tempo de indução foi superior a 3 minutos.. O tempo de indução anestésica apresentou redução significativa com o aumento das concentrações testadas, porém, para o tempo de recuperação não foi observada a mesma relação. O tempo de recuperação em todas as doses testadas não excedeu 5 minutos, porém observou-se que o tempo de recuperação foi um pouco mais lento que o do jundiá.

Vidal et al. (2006), testando eugenol como anestésico em juvenis de pintado (*Pseudoplatystoma corruscans*; 27,76 ± 7,7 g.), observaram que na menor dose testada (25 mg L<sup>-1</sup> eugenol) ocorreu anestesia profunda, assim como demonstrado no presente trabalho para o suruvi, e diferente do registrado em jundiás, que só foi induzido com concentração igual ou superior a 50 mg L<sup>-1</sup>.

Testando o eugenol como anestésico para o Siluriformes pacamã (*Lophiosilurus alexandri*) na faixa de temperatura de 28,1 ± 0,6°C, Ribeiro et al. (2013) também obtiveram 100 % de sobrevivência no período pós-tratamento. Para *Pimephales promelas*, no entanto, a anestesia com 100 mg.L<sup>-1</sup> de eugenol propiciou apenas 60% de sobrevivência (PALIC et al., 2006), o que demonstra a importância dos estudos espécie-específicos para o emprego dos anestésicos.

A Figura 3 apresenta a regressão entre o tempo de indução e as concentrações de eugenol para o suruvi, que foi representada pelo modelo  $Y=4196,1X^{-0,9128}$  ( $p < 0,01$ ;  $R^2= 0,91$ ). Considerando-se o tempo de 3 minutos para indução à anestesia, e o tempo de recuperação não superior a 5 minutos, verificou-se que a dose ideal é igual a 31,5 mg/L<sup>-1</sup> de eugenol.



**Figura 3.** Regressão entre o tempo de indução à anestesia e a concentração de eugenol ( $Y=4196,1X^{-0,9128}$ ;  $R^2= 0,91$ ), e tempo de recuperação de *Steindachneridion scriptum* (suruvi).

## CONCLUSÃO

As diferentes concentrações de eugenol influenciaram os tempos de indução para piava, jundiá e suruvi, porém não foi registrada mortalidade. As concentrações ideais para piava, jundiá e suruvi são: 39,3, 68,6 e 31,5 mg.L<sup>-1</sup> de eugenol, respectivamente.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDERSON, W. G.; MCKINLEY, S.; COLAVECCHIA, M. The use of clove oil as an anesthetic for rainbow trout and its effects on swimming performance. **North American Journal of Fisheries Management**, Bethesda, 17(2): 301-307, 1997.

CUNHA, M. A. Anesthesia of silver catfish with eugenol: time of induction, cortisol response and sensory analysis of fillet. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 40, n. 10, p. 2107-2114, 2010.

DERIGGI, G. F.; INOUE, L. A. K. A.; INOUE, G. Stress responses to handling in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* Linnaeus): assessment of

eugenol as an alternative anesthetic. **Acta Scientiarum Biological Science**, v. 28, p. 269-274, 2006.

DIEMER, O.; NEU, D. H.; BITTENCOURT, F.; SIGNOR, A.; BOSCOLO, W. R.; FEIDEN, A. Eugenol como anestésico para jundiá (*Rhamdia voulezi*) em diferentes pesos. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 33, n. 4, p. 1495-1500, 2012.

GRUSH, J.; NOAKES, D. L. G.; MOCCIA, R. D. The efficacy of clove oil as an anesthetic for the Zebrafish, *Danio rerio* (Hamilton). **Zebrafish**, New Rochele, v. 1, n. 1, 2004.

HIKASA, Y.; TAKSE, K.; OGASAWARA, T.; OGASAWARA, S. Anesthesia and recovery with tricaine methanesulfonate, eugenol and thiopental sodium in the carp, *Cyprinus Carpio*. **Nippon Juigaku Zasshi**, Tokyo, v. 48, p. 341-351, 1986.

HONCZARYK, A. & INOUE, L. A. K. A., Anesthesia in pirarucu by benzocaine sprays in the gills. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 39, p. 577-579, 2009.

HYAMS, D. G. Curve expert Professional: a comprehensive data analysis software system for Windows. 2011-2013.

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

MARKING, L. L. & MEYER, F. P. Are better anaesthetics needed in fisheries? **Fisheries**, v. 10, p. 2-5, 1985

MAZZAFERA, P. Efeito alelopático do extrato alcoólico do cravo-da-índia e eugenol. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 26, n. 2, p.231-238, 2003.

PALIC, D.; HEROLT, D. M.; ANDREASEN, C. B.; MENZEL, B. W.; ROTH, J. A. Anaesthetic efficacy of tricaine methanesulfonate, metomidate and eugenol: effects on plasma cortisol concentration and neutrophil function in fathead minnows (*Pimephales promelas* Rafinesque, 1820). **Aquaculture**, v. 254, p.675-685, 2006.

PARK, M. O.; HUR, W. J.; IM, S. Y.; SEOL, D. W.; LEE, J.; PARK, I. S. Anaesthetic efficacy and physiological responses to clove oil anaesthetized kelp grouper *Epinephelus bruneus*. **Aquaculture Research**, v. 39, p. 877-884, 2008

RIBEIRO, P. A. P.; MIRANDA FILHO, K. C.; MELILLO FILHO, R.; SANTOS, A. E. H.; SILVA, W. de S. e; RODRIGUES, L. A.; LUZ, R. K. Efeito anestésico do eugenol em juvenis de pacamã. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 48, n. 8, p. 1136-1139, 2013.

ROUBACH, R. & GOMES, L.C. O uso de anestésicos durante o manejo de peixes. **Panorama da Aqüicultura**, v. 66, p. 37-40, 2001.

ROSS, L.G. & ROSS, B. Anaesthetic and sedative techniques for aquatic animals, **Blackwell Science Ltd**, Oxford, UK. 159p. 1999.

SILVA, F. de A. S. e. & AZEVEDO, C. A. V. de. Versão do programa computacional Assistat para o sistema operacional Windows. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v. 4, n. 1, p. 71-78, 2002. SUMMERFELT, R. C.; SMITH, L. S. Anaesthesia, surgery, and related techniques. In: SCHRECK, C. B.; MOYLE, P. B. (Eds.). **Methods for Fish Biology**. American Fisheries Society: Bethesda, p. 213-27, 1990.

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

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

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

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

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

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DA INTRODUÇÃO

ANDERSON, W.G.; MCKINLEY, R.S.; COLAVECCHIA, M. The use of clove oil as an anesthetic for rainbow trout and its effects on swimming performance. *North American Journal of Fisheries Management*, Bethesda, 17(2): 301-307, 1997.

BALDISSEROTTO, B.; RADÜNZ NETO, J. **Criação de Jundiá**. Santa Maria, Ed. UFSM, 2004.

BOCKMANN, F. A.; GUAZZELLI, G. M. Heptapteridae. In: REIS, R. E.; KULLANDER, S. O.; FERRARIS, JR. C. J. (Orgs.) Check list of the Freshwater Fishes of South and Central America. Porto Alegre: EDIPUCRS, 2003, p. 406-431.

CRESCÊNCIO, R. Ictiofauna brasileira e seu potencial para criação. In: Baldisserotto, B.; Gomes L. C. (Org.). **Espécies nativas para piscicultura no Brasil**. Santa Maria: UFSM, p. 23-33, 2005.

CUNHA, M. A. Anesthesia of silver catfish with eugenol: time of induction, cortisol response and sensory analysis of fillet. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 40, n. 10, p. 2107-2114, 2010.

DAVIDSON, G.W.; et al. Physiological responses of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* to crowding and anesthesia with Aqui-Sk. **J. World Aquac. Soc.**, v. 31 n. 1, p. 105-114, 2000.

FAÇANHA, M.F.; GOMES, L.C. A eficácia do mentol como anestésico para o tambaqui (*Colossoma macropomum*). *Acta Amazônica*, Manaus, v.35, p. 71-75. 2005.

GARAVELLO, J.C. Revision of genus *Steindachneridion* (Siluriformes: Pimelodidae). **Neotropical Ichthyology**, Porto Alegre, 3(4): 607-623, 2005.

GARAVELLO, J.C.R. **Revisão taxonômica do gênero *Leporinus Spix, 1829* (Ostariophysi, Anostomidae)**. 1979. 123 f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas – Zoologia), Universidade de São Paulo, São Paulo.

GIMBO, R.Y. et al. Diferentes concentrações de benzocaína na indução anestésica do lambari-do-rabo amarelo (*Astyanax altiparanae*). **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 9, p. 350-357, 2008.

GONÇALVES, A.F.N.; SANTOS, E.C.C.; FERNANDES, J.B.K.; TAKAHASHI, L.S. Mentol e eugenol como substitutos da benzocaína na indução anestésica de juvenis de pacu. **Acta Sci. Anim. Sci.**, v. 30, p. 39-344, 2008.

GUEDES, D.S. **Contribuição ao estudo da sistemática e alimentação de jundiás (*Rhamdia spp*) na região central do Rio Grande do Sul (Pisces, Pimelodidae)**. Santa Maria – RS, 1980. 99p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Santa Maria - Santa Maria, 1980.

HUBBELL, J.A.E.; MUIR, W.W.; SKARDA, R. Anesthetic procedures and techniques in birds, fish, reptiles, amphibians, rodents and exotic cats. In: MUIR, W. W.; HUBBELL, J. A. E. **Handbook of veterinary anesthesia**. St Louis: Mosby. 1989. p. 234-259.

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

IVERSEN, M. et al. The efficacy of metomidate, clove oil, Aqui-S™ and Benzoak® as anesthetics in Atlantic salmon (*Salmo solar* L.) smolts, and their potential stress-reducing capacity. **Aquaculture**, v. 221, p. 549-566. 2003.

IWAMA, G.; ACKERMAN, A. Anaesthetics. In: HOCHACHKA, P.; MOMMSEN. **Analytical techniques in biochemistry and molecular biology of fishes**. Amsterdam: Elsevier Science, 1994. p. 1-5.

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

MEURER, S. e ZANIBONI-FILHO, E. O suruvi *Steindachneridion scripta* Ribeiro, 1918, como espécie alternativa para a piscicultura sul brasileira. In: **SIMPÓSIO BRASILEIRO DE AQUÍCULTURA, 11**, Florianópolis. *Anais...* Florianópolis: Associação Brasileira Aqüicultura. São Paulo: Sonopress-Rimo, v. único. p. 1-7, 2000.

MPA (MINISTÉRIO DA PESCA E AQUICULTURA). Estatística da Pesca e Aquicultura 2011. Disponível em: <http://www.mpa.gov.br/index.php/informacoes-e-estatisticas/estatistica-da-pesca-e-aquicultura> Acesso em: 04 março de 2014.

NOCHETTO, C.B. et al. Determination of tricaine residues in fish by liquid chromatography. **Journal of AOAC International**, v. 92, p. 1241-1248. 2009.

OLSEN, Y. A.; EINARSDOTTIR, I. E.; NIELSSEN. Metomidate anaesthesia in Atlantic salmon, *Salmon salar*, prevents plasma cortisol increase during stress. **Aquaculture**, v. 134, p. 155-168, 1995.

PALIC, D., et al. Anesthetic efficacy of tricaine methanesulfonate, metomidate and eugenol: effects on plasma cortisol concentration and neutrophil function in fathead minnows (*Pimephales promelas* Rafinesque, 1820). **Aquaculture**, v. 254, p. 675-685, 2006.

PARK, M.O. et al. Anaesthetic efficacy and physiological responses to clove oil anaesthetized kelp grouper *Epinephelus bruneus*. **Aquaculture Research**, v. 39, p. 877-884. 2008

ROSS, L.G. & ROSS, B. **Anaesthetic & sedative techniques for aquatic animals**. Oxford: Blackwell Science, 240 p, 2008.

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

ROUBACH, R.; GOMES, L.C.; VAL, A.L. Safest level of tricaine methanosulfanate (MSS-222) to induce anesthesia in juveniles of matrinxã (*Brycon cephalus*). **Acta Amazonica**, v. 31, p. 159-163. 2001.

SILVEIRA, F. S.; SILVA, F. M.; GRAEFF, A. Desempenho da piscicultura catarinense em 2011. **Panorama da Aqüicultura**, Rio de Janeiro, v. 22, n. 133, p. 63-64, 2012.

SILFVERGRIP, A.M.C. **A systematic revision of the Neotropical catfish genus *Rhamdia* (Teleostei, Pimelodidae)**. 1996. 156 p. (PhD Thesis) – Stockholm University and Department of Vertebrate Zoology, Swedish Museum of Natural History, 1996. Stockholm, Sweden.

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

TAKEUCHI, R. S. **Utilização de benzocaína, eugenol e tricaina metanosulfato (MS-222) como anestésico em juvenis e adultos para a sardinha-verdadeira, *Sardinella brasiliensis* (Steindachner, 1879)**, Dissertação (Pós-Graduação em Aquicultura) - Centro de Ciências Agrárias. Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, SC, 2012. 36p.

VIDAL, L.V.O. et al. Utilização do eugenol como anestésico para o manejo de juvenis de pintado (*Pseudoplatystoma corruscans*). **Acta Scientiarum Biological Sciences**, v. 28, p. 275-279. 2006

VIDAL, L.V.O. et al. Eugenol como anestésico para juvenis de matrinxã (*Brycon cephalus*). **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 8, p.335-342. 2007.

VOLPATO, G.L. Considerações metodológicas sobre o teste de preferência na avaliação do bem estar em peixes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, p. 53-61. 2007.

WEINGARTNER, M.; BEUX, L.F.; FRACALOSSO, D.M.; NUÑER, A.P.O.; ZANIBONI-FILHO, E. Desenvolvimento de tecnologias de cultivo para peixes nativos do alto rio Uruguai. In: ZANIBONI-FILHO, E.; NUÑER, A.P.O. (Org.) Reservatório de Itá: Estudos ambientais, desenvolvimento de tecnologias de cultivo e conservação da ictiofauna. Florianópolis. p. 257-309. 2008

WOODY, C.A. et al. Clove oil as an anaesthetic for adult sockeye salmon: Field trials. **Journal of Fish Biology**, v. 60, p. 340-347. 2002.

ZAHL, I. H. et al. Anaesthesia of Atlantic cod (*Gadus morhua*) effect of pré-anaesthetic sedation, and importance of body weight, temperature and stress. **Aquaculture**, v. 295, p. 52-59, 2009.

ZANIBONI-FILHO, E. et al. Alterações espaciais e temporais da estrutura da comunidade de peixes em decorrência da implantação do reservatório de Itá (alto rio Uruguai). pp. 21-48. In: Zaniboni-Filho, E. & A. P. O. Nuñer (Eds.). **Reservatório de Itá**. Estudos ambientais,

desenvolvimento de tecnologias de cultivo e conservação da ictiofauna. Florianópolis, Editora da UFSC, 198p. 2008.

ZANIBONI-FILHO, E. et al. **Catálogo ilustrado dos peixes do alto rio Uruguai**. Florianópolis: Ed. UFSC/Tractebel Energia, 128p, 2004.

ZANIBONI-FILHO, E. et al. **Ictiofauna do Alto Rio Uruguai: biologia, conservação e cultivo**. Florianópolis: Ed. UFSC/Tractebel Energia, 131p. 2002.

ZANIBONI-FILHO, E. & SCHULZ, U.H. Migratory fishes of the Uruguay River. In: CAROLSFELD, J., et al. **Migratory fishes of South America**: biology, social importance and conservation status. World Fisheries Trust, 2003. p. 124-156.

## Anexo I

Piavas sendo induzidas à anestesia.



## Anexo II

Suruvi em estado de anestesia profunda.



## Anexo III

Tanques de 1000 L onde os peixes foram mantidos.



## Anexo IV

Biometrias feitas após a indução à anestesia profunda

