

UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
MESTRADO PROFISSIONAL - TECNOLOGIA EM
AQUICULTURA CONTINENTAL

**EFEITO DO EUGENOL NA SOBREVIDA DE LAMBARIS (*ASTYANAX SP*)
EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES E TEMPERATURAS**

CORACI DE PAULA

Goiânia - GO

2009

CORACI DE PAULA

**EFEITO DO EUGENOL NA SOBREVIVÊNCIA DE LAMBARIS (ASTYANAX SP)
EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES E TEMPERATURAS**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado Profissional – Tecnologia em Aquicultura Continental, como requisito parcial para a obtenção do Título de Mestre em Tecnologia em Aquicultura Continental.

Orientadora: Profa. Dra. Ana Christina Sanches

Goiânia - GO

2009

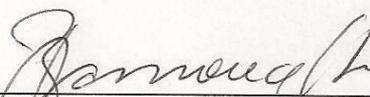
UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS
PRÓ - REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
MESTRADO PROFISSIONAL EM TECNOLOGIA EM AQUICULTURA
CONTINENTAL

**EFEITO DO EUGENOL NA SOBREVIDA DE LAMBARIS (*ASTYANAX SP*)
EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES E TEMPERATURAS**

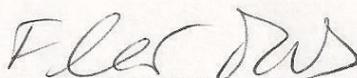
Defesa Pública de Dissertação DEFENDIDA e APROVADA, na cidade de
GOIÂNIA – GO, em 30 de Setembro de 2009, pela banca constituída pelos
professores:



Profa. Dra. Ana Christina Sanches
Universidade Católica de Goiás – Orientadora



Prof. Dr. Breno de Faria e Vasconcellos
Universidade Católica de Goiás – Avaliador Interno



Dra. Flávia Tavares
Ministério de Aquicultura e Pesca - PR

Dedicatória

Dedico este trabalho ao meu filho

Leonardo de Paula da Cunha

Pela compreensão em determinados momentos.

Agradecimentos

À Prof. Dra. Ana Christina Sanches pela orientação, competência, carinho, serenidade, paciência e amizade em todos os momentos.

Ao Prof. Dr. Breno de Faria e Vasconcellos pela escolha do tema, orientação do trabalho, pronto atendimento nos momentos de dúvida e amizade.

Ao Dr. Adilon Antônio de Souza pela luta incansável pela continuidade dos técnicos da Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de Goiás - SEAGRO neste mestrado.

Ao Deputado Federal Dr. Pedro Wilson e ao Ministro da Pesca Dr. Altemir Gregolin pela viabilização financeira deste mestrado.

Ao Prof. Guttemberg Kirk da Fonseca Ribeiro pela valiosa colaboração nos primeiros dias do experimento.

À técnica de laboratório Nilva Abadia Rabelo, pelo apoio e atenção.

Ao instrumentador do Laboratório de Piscicultura Sr. José Neves Coelho pela confiança e apoio.

À estagiária Rayanne Galdino Menezes pela colaboração.

À secretária do Mestrado Profissional em Tecnologia em Aquicultura Continental - MPAC Cristhiane Santos Barbosa pela gentileza e eficiência nos atendimentos.

À minha família pelo apoio em todos os momentos.

E a todos que participaram direta ou indiretamente deste trabalho.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	vii
LISTA DE FIGURAS	viii
RESUMO	ix
ABSTRACT	x
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO LITERATURA	2
2.1. O lambari.....	2
2.2. Estresse.....	4
2.3. Transporte.....	6
2.4. Temperatura.....	8
2.5. Eugenol.....	9
2.6. Anestesia em lambari.....	12
2.7. Oxigênio dissolvido.....	12
2.8. pH.....	13
2.9. Amônia.....	14
3. MATERIAL E MÉTODOS	16
3.1. Local e animais.....	16
3.2. Tratamentos e delineamento experimental.....	16
3.3. Instalações experimentais.....	18
3.4. Preparação do eugenol.....	18
3.5. Mortalidade.....	19
3.6. Qualidade da água.....	20
3.7. Biometria.....	20
3.8. Análise estatística.....	20
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	21
4.1. Temperatura.....	21
4.2. Concentração do eugenol.....	22
4.3. Interação entre temperatura e concentração do eugenol.....	24
4.4. Oxigênio dissolvido.....	25
4.5. pH.....	27
4.6. Amônia.....	28
5. CONCLUSÃO	31
6. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA	32

LISTA DE TABELAS

- TABELA 1** – Doses efetivas de anestésicos utilizados nas diversas espécies.....11
- TABELA 2** – Proporção dos ingredientes nas doses do anestésico eugenol.....19
- TABELA 3** - Análise de variância do tempo da primeira morte em função da temperatura.....21
- TABELA 4** - Análise de variância do tempo da primeira morte em função da concentração do eugenol.....23
- TABELA 5** -Tempos médios de início de mortalidade em relação a temperatura e concentração do eugenol.....25

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - Exemplar do lambari (<i>Astyanax sp</i>).....	2
FIGURA 2 - Representação dos tratamentos e delineamento experimental.....	17
FIGURA 3 - Início da mortalidade dos peixes em função da temperatura da água.....	22
FIGURA 4 - Início da mortalidade dos peixes em função da concentração do eugenol.....	24
FIGURA 5 - Oxigênio dissolvido em função da concentração do eugenol.....	26
FIGURA 6 - pH em função da temperatura.....	27
FIGURA 7 - pH em função da concentração do eugenol.....	28
FIGURA 8 - Amônia em função da temperatura.....	29
FIGURA 9 .- Amônia em função da concentração do eugenol.....	30

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito do eugenol na sobrevivência de lambaris (*Astyanax sp*) em diferentes concentrações e temperaturas, visando aprimorar as técnicas de transporte. Foram utilizados 625 peixes com $4,28 \pm 2,75$ g e $6,62 \pm 1,18$ cm, submetidos a concentrações de eugenol de 7,5; 9,5; 11,5; 13,5 e 15,5 mg/L sob diferentes temperaturas (20, 22, 24, 26 e 28°C), totalizando 25 tratamentos com 05 repetições cada. Assim foram utilizados 125 unidades experimentais de 1litro cada, onde os peixes permaneceram até se observar o início da mortalidade, momento em que encerrava o ensaio e procedia a análise do pH, oxigênio dissolvido, amônia da água e biometria dos peixes. Os resultados mostraram que a temperatura e o eugenol influenciaram no início da mortalidade, pH e amônia, no entanto, o oxigênio dissolvido foi influenciado apenas pelas concentrações do eugenol. Temperaturas em torno de 20 e 28°C parecem acelerar a mortalidade dos peixes, comparando-se com temperaturas próximas a 24°C. Pode-se concluir que concentrações de eugenol de 7,5 a 15,5 mg/L são apropriadas para a espécie em questão. Paralelamente conclui-se que a temperatura de 24°C e concentração do eugenol na faixa de 7,5 a 9,5 são as mais indicadas para o uso no transporte do lambari.

Palavras-chave: transporte, mortalidade, oxigênio dissolvido, pH, amônia.

ABSTRACT

The present study aimed to evaluate the effect of eugenol on the lambaris survival (*Astyanax sp*) at different concentration and temperatures, contributing to transportations technics. Six hundred and twenty five fish with $4,28\pm 2,75$ g $6,62\pm 1,18$ cm were used. Eugenol concentrations of 7,5; 9,5; 11,5; 13,5 and 15,5 mg/L were tested at 05 replications. Each concentration was submitted to temperatures of 20, 22, 24, 26 and 28°C, totalizing 125 experimental units. Each unit received 05 fishes, wich were kept of 01 liter volume until the beginning of mortality, when the analyses of pH, ammonia, and dissolved oxygen started. The results obtained showed that the beginning of mortality, pH and ammonia were significantly influenced by the temperature and eugenol concentrations. The dissolved oxygen was influenced only by the eugenol concentration. Considering the temperature, it was registred that temperatures between 20 and 28°C caused mortality earlier than temperatures around 24°C. It was concluded that eugenol concentrations between 7,5 and 15,5 mg/L are appropriated for this specie. Besides, it was observed temperature of 24°C and eugenol concentrations in the range of 7,5 and 9,5 mg/L indicated to use in the transportation of lambari.

Key-words: transportation, mortality, dissolved oxygen, pH and ammonia.

1. INTRODUÇÃO

A aquicultura está em franca expansão em todo mundo, especialmente nos países em desenvolvimento. É praticada em todos os estados brasileiros e abrange, principalmente, as seguintes modalidades: piscicultura (criação de peixes), carcinicultura (camarões), ranicultura (rãs) e malacocultura (moluscos: ostras, mexilhões, escargot), ainda outras modalidades de produção aquática, como o cultivo de algas, em menor escala. A piscicultura é uma das atividades agropecuárias que mais cresceu no Brasil, graças aos recentes avanços tecnológicos na produção e a viabilização da comercialização de peixes através dos pesque-pagues, supermercados, feiras e frigoríficos (Scorvo-Filho, 2004). Com isso, a quantidade de peixes vivos manejada rotineiramente no país é muito grande, com produção de pescado chegando a 1.072.226 toneladas ao ano, dos quais 210.644 toneladas correspondem à aquicultura continental com 99,60% oriundos de pisciculturas (IBAMA, 2007).

No processo de criação, o transporte é uma das etapas mais importantes no manejo da produção e comercialização de peixes. Durante essa prática, os peixes são afetados por uma série de fatores estressantes, como captura, superpopulação, mudanças bruscas na qualidade e temperatura da água, manuseio, barulho excessivo e o próprio transporte (Oliveira, 2007).

De acordo com Pedrazzani et al. (2007), um dos principais desafios no transporte é conter a maior densidade de peixes no menor volume de água possível, sem que haja mortalidade, deterioração da qualidade da água e estresse.

Para minimizar esses problemas, tem-se utilizado anestésicos. Entretanto, ainda não foram determinadas doses efetivas para algumas espécies utilizadas. Nesse sentido, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o início da mortalidade em lambari submetido a diferentes temperaturas e concentrações de eugenol visando aprimorar as técnicas de transporte, minimizando prejuízos ao sistema de criação.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. O lambari

O nome lambari é aplicado a um conjunto de pequenos peixes pertencentes principalmente às subfamílias dos cheirodontíneos e tetragonopteríneos, da família dos Caracídeos (Garutti, 2003a).

O lambari, objeto deste trabalho (Figura 1), pertence à família Characidae, gênero *Astyanax* e apresenta como características uma mancha umeral preta, horizontalmente ovalada, uma mancha preta no pedúnculo caudal e duas barras verticais marrons na região umeral. Suas nadadeiras são amarelas, especialmente a nadadeira caudal que apresenta tons amarelos fortes. É um peixe de pequeno porte que atinge 10 a 15 cm de comprimento, podendo chegar a 60 gramas de peso. Possui hábito alimentar onívoro e seu crescimento é rápido.

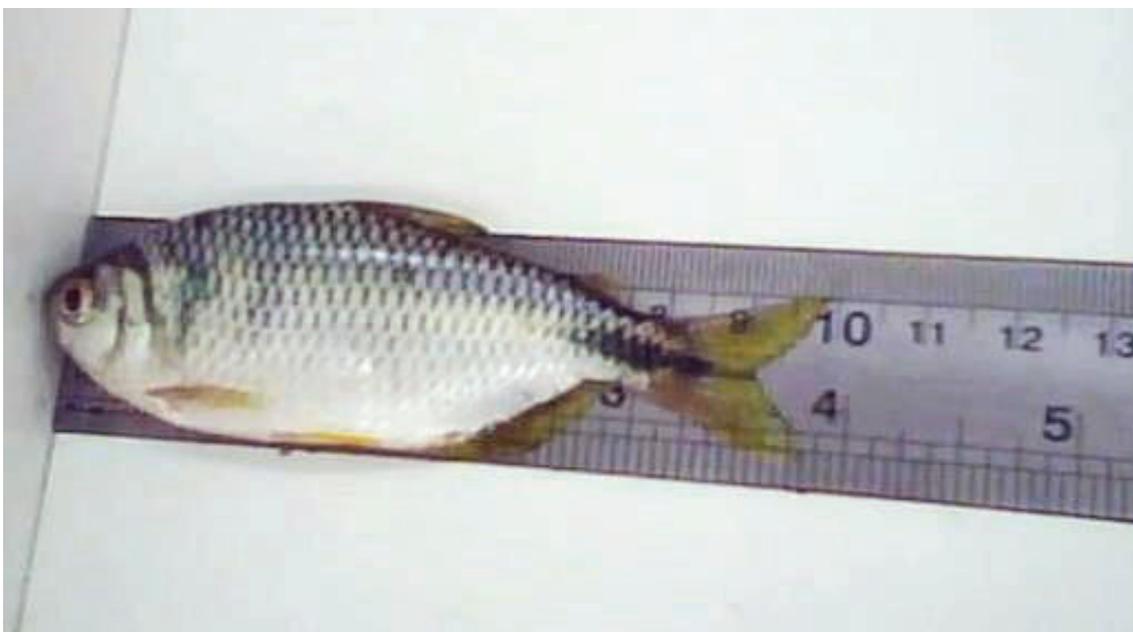


FIGURA 1 - Exemplar do lambari (*Astyanax* sp)

Existem cerca de 100 espécies nominais referidas para o gênero *Astyanax*, cuja distribuição geográfica é ampla na região neotropical, que vai do sul dos Estados Unidos ao norte da Argentina, cujo conhecimento taxonômico atual é bastante confuso (Lima et al., 2003). No Brasil é encontrado na Bacia Amazônica, Araguaia, Tocantins, São Francisco, Prata e Atlântico Sul e se espalha por todos os ambientes aquáticos, principalmente às margens de riachos, lagoas, represas, rios e pequenos córregos (Fava, 2008).

Dias et al. (2005) trabalhando características populacionais do lambari (*Astyanax altiparanae*) nos rios Corumbá e Paranaíba em Goiás, observaram que a espécie apresentou ampla distribuição no espaço temporal, sendo capturada em todos os meses e locais. Dentre as características populacionais mais relevantes para a colonização, destacam-se a ampla distribuição geográfica e a habilidade de ocupar e reproduzir em habitats lênticos, além da flexibilidade alimentar.

Durante cerca de trinta anos, estes peixes têm sido alvo de estudos cromossômicos, que os caracterizaram como um grupo com grande diversidade citogenética. Recentemente, com o advento de técnicas de citogenética molecular e de estudos empregando marcadores de DNA, tem-se produzido novos dados sobre a biologia evolutiva do grupo, possibilitado a revisitação de antigos problemas do gênero, como sua difícil classificação taxonômica (Kavalco, 2008).

Na revisão taxonômica das espécies e subespécies do gênero *Astyanax* realizada por Garutti em 1995, as formas identificadas inicialmente como pertencentes ao grupo *Astyanax bimaculatus* por possuírem características em comum, como a mancha umeral de forma oval e mancha no pedúnculo caudal estendendo-se à extremidade dos raios caudais medianos, incluíam formas suficientemente distintas, justificando o ideal, que seria atribuir a cada uma delas a categoria de espécie. Esses estudos resultaram na descrição de 21 novas espécies (Almeida, 2007).

Nas regiões Sul, Sudeste e Centro Oeste do Brasil, esse peixe é conhecido popularmente como tambuí ou lambari-do-rabo-amarelo. No Nordeste como piaba e nos países Sul Americanos como majorra ou sardinha-de-agua-doce (Garutti, 2003b).

O lambari tem boa aceitação na alimentação humana, como isca-viva na pesca, e em menor escala, é utilizado como peixe ornamental na aquariorfilia. Desempenha papel fundamental na cadeia alimentar dos ecossistemas de águas interiores. É importante predador de larvas de insetos e um dos principais itens na dieta dos peixes carnívoros. Pelo aspecto econômico, é uma alternativa viável aos agricultores familiares, pois em espaços reduzidos podem realizar o cultivo intensivo, possibilitando melhoras na renda da família rural.

Segundo Garutti (2003b), a espécie recomendada para cultivo é identificada como *Astyanax atiparanae*, criada em água de boa qualidade, em quantidade suficiente para atender a demanda e apresentar no mínimo as seguintes características físico-químicas: Oxigênio dissolvido acima de 3 mg/L, pH entre 5,5 e 8,5 e temperatura entre 15 e 30°C.

2.2. Estresse

Nos sistemas intensivos de piscicultura, os animais passam por diversas situações estressantes como as altas densidades utilizadas durante a criação e alguns procedimentos rotineiros. Como consequências, podem ocorrer desde perda do apetite e peso, redução no crescimento, aparecimento de doenças ou a morte dos animais (Barcellos et al., 2000).

Na piscicultura é bastante comum o relato de prejuízos econômicos expressivos devido à mortalidade decorrente das deficiências gerais de manejo. Algumas práticas realizadas na aquicultura como biometria, análises fisiológicas, implantes hormonais e transporte, frequentemente expõem peixes a uma variedade de fatores estressantes que têm o potencial de afetar seu desempenho (Barton, 2000).

A atenção e a preocupação com o significado do estresse em piscicultura têm aumentado consideravelmente nos últimos anos, principalmente pelos efeitos negativos na produção (Urbinati & Carneiro, 2004).

Nos vertebrados, uma resposta clássica ao estresse agudo é a liberação de glicocorticóides, principalmente o cortisol. Estes hormônios promovem mudanças fisiológicas e comportamentais tais como uma rápida produção de glicose e interrupção provisória da reprodução (Sapolsky et al., 2000). De acordo com Lima et al. (2006), essa resposta ao estresse é um mecanismo que

permite ao peixe preservar sua saúde frente à ameaça de estressores. Dependendo da severidade do estressor, o mecanismo de resposta pode se tornar disfuncional e impactar negativamente a fisiologia do animal. Portanto, o cortisol plasmático tem papel preponderante na inibição do desempenho reprodutivo de peixes desencadeado por estresse. Os indicadores mais utilizados na avaliação do estresse e que normalmente, dão respostas adequadas são os níveis plasmáticos de cortisol e glicose do sangue (Barton, 2000).

De acordo com Schreck et al. (2001), a elevação das densidades de animais em sistemas de produção intensiva e a imposição das atividades rotineiras que tais sistemas exigem, ocasionam estresse e, conseqüentemente, risco ao desempenho dos peixes. Em aquicultura, o sucesso reprodutivo de espécies economicamente importantes é decisivo para os demais setores da cadeia produtiva. Considerando-se que a fisiologia da maturação e desova está estreitamente associada com a fisiologia do estresse em peixes, os estressores são uma ameaça à qualidade de gametas e de progênie das espécies cultivadas.

Inoue et al. (2008), ao pesquisarem respostas fisiológicas ao estresse no matrinxã (*Brycon amazonicus*), submetidos à queda brusca de temperatura de 28 para 18°C, verificaram que houve claros sinais de estresse fisiológico durante os procedimentos experimentais, sendo que essas respostas não foram associadas ao choque frio, mas sim ao choque quente por ocasião da volta dos peixes para as caixas de origem. As respostas primárias e secundárias de estresse foram evidentes através das análises plasmáticas de cortisol e glicose.

As respostas ao estresse são divididas em três categorias: primária, secundária e terciária; as respostas primárias são hormonais; as secundárias são as mudanças nos parâmetros fisiológicos e bioquímicos e as terciárias, são o comprometimento do crescimento, as mudanças no comportamento e o aumento de susceptibilidade a doenças (Mazeaud et al., 1977).

A utilização de anestésicos, durante o manejo, pode aliviar a maioria das reações de estresse (Ross & Ross, 1999; citado por Vidal et al., 2008), além de reduzir a motilidade e facilitar o manejo dos peixes (Inoue et al., 2005).

Brandão et al. (2006), trabalhando com respostas de estresse em pirarucu (*Arapaima gigas*), durante práticas de rotina em piscicultura (transporte, adensamento e exposição à amônia) e analisando parâmetros do metabolismo energético (glicose e lactato), hormonal (cortisol), e de hematologia (hematócrito), observaram alterações nos parâmetros fisiológicos desse peixe, e as respostas de estresse durante o transporte foram similares às do adensamento. Porém, a magnitude das respostas ao adensamento foram maiores. A exposição à amônia não causou alteração imediata nos parâmetros fisiológicos, havendo latência nas respostas de estresse.

Segundo Barbosa et al. (2007), o matrinxã (*Brycon amazonicus*) é uma espécie de peixe que se movimenta em excesso durante o manejo, o que pode levar a ferimentos e perdas de escamas. Isso pode resultar em estresse e manifestação de doenças provocadas por microrganismos ou a morte. Além disso, os movimentos bruscos dos animais colocam em risco também a segurança dos trabalhadores, principalmente ao manusear equipamentos como: bisturis, agulhas, balanças eletrônicas dentre outros. Esse risco aumenta quando os peixes são de grande porte. Assim, o uso de anestésicos é imperativo para fins de segurança e diminuição do estresse durante práticas de manejo como biometrias, marcações, injeções e transporte. Ao avaliarem respostas metabólicas em simulações de banhos anestésicos, respostas típicas ao estresse foram detectadas devido ao manuseio imposto para realização dos banhos.

2.3. Transporte

O transporte de peixes vivos é uma prática rotineira na piscicultura, e como tal, deve ser planejada de modo que o desconforto proporcionado aos animais seja o menor possível. As finalidades podem ser devido a comercialização de alevinos, aquisição de peixes adultos por pesque-pagues, transporte de reprodutores e peixes destinados ao comércio de peixe vivo (Gomes et al., 2003).

O transporte é um manejo inevitável no processo produtivo, embora seja considerado um procedimento traumático que expõe os peixes a uma série de

estímulos que desencadeiam respostas fisiológicas de adaptação, ou seja, é um fator estressante (Iversen et al., 1998; Urbinati & Carneiro, 2004; Adamante 2005).

Segundo Pedrazzani et al. (2007), os fatores críticos a se considerar em relação ao transporte são a captura, a espera pelo transporte, a embalagem dos peixes e o controle dos fatores ambientais da água durante o transporte, já que os animais são transportados em tanques sob elevada densidade de lotação.

Os problemas relacionados à qualidade e sobrevivência dos peixes após o manuseio e o transporte ainda afligem produtores, distribuidores e compradores de alevinos. O fato dos peixes chegarem vivos não assegura o sucesso, visto que grande parte da mortalidade associada ao estresse do transporte ocorre na semana seguinte a este (Kubitza, 2003).

Ainda de acordo com o mesmo autor a redução na temperatura da água de transporte reduz o metabolismo dos peixes e, conseqüentemente, reduz as taxas de consumo de oxigênio e de excreção de amônia e gás carbônico. A temperatura da água deve estar a valores próximos a 22°C no transporte dos peixes tropicais. Deve-se dar atenção ao horário de transportar os peixes e fazê-lo na parte da manhã quando a temperatura está mais baixa ou então, abaixar um pouco a temperatura da água de transporte, para diminuir o estresse dos peixes.

O transporte gera um conjunto de agentes estressores aos organismos aquáticos que podem causar injúrias aos animais, tais como: manipulação direta, vigorosa atividade muscular (o que pode diminuir o oxigênio das células), exposição à água de baixa qualidade durante o transporte e a movimentação constante das embalagens (Barton, 2000).

Segundo Inoue et al. (2003), o transporte de peixes é de extrema severidade, como constatado em matrinxãs (*Brycon cephalus*) onde os autores observaram uma excessiva perda de muco, escamas e agressões entre os peixes durante o mesmo.

Abreu et al. (2008) estudando respostas de estresse de juvenis de matrinxã após transporte, em sistema fechado sob diferentes densidades de cargas observaram que o cortisol plasmático e a glicose sanguínea aumentaram após o transporte nos peixes em todas as densidades ensaiadas,

voltando aos valores controle 24 horas depois. A qualidade da água foi monitorada antes da captura dos peixes nos tanques de depuração, após o transporte nos sacos plásticos e nos tanques de recuperação. Após o transporte nos sacos plásticos, o oxigênio diminuiu para valores inferiores a 4 mg/L a temperatura esteve em torno de 32°C, pH 6,5-6,7 e amônia de 1,09 a 1,7 mg/L. Inoue et al. (2005) avaliaram o estresse no transporte de peixe da mesma espécie em sacos plásticos e os efeitos do uso do óleo de cravo nessa etapa do manejo no qual foram testadas concentrações de 0, 1, 5 e 10 mg/L de óleo de cravo em bolsas plásticas preenchidas com água e oxigênio, de acordo com as práticas comumente utilizadas no Brasil. O óleo de cravo reduziu algumas das principais respostas ao estresse avaliadas (cortisol e glicose plasmática), sugerindo que o óleo de cravo em concentração de 5 mg/L pode atenuar as principais respostas de estresse do matrinxã durante o transporte.

2.4. Temperatura

A temperatura da água é um dos principais fatores que afetam o desenvolvimento e a vida dos peixes. Reprodução, alimentação, defesa imunológica, dentre outros fatores, estão intimamente ligadas a temperatura da água. Isso porque os peixes são animais pecilotérmicos, isto é, a sua temperatura varia com a do ambiente. Também, interfere diretamente na solubilidade de gases, velocidade de reações químicas e circulação de água.

De acordo com Vieira et al. (2003), a faixa ideal de temperatura da água das espécies tropicais está entre 20 a 30°C, sendo o nível ótimo para a maioria entre 25 e 28°C. Temperaturas inferiores a 20°C normalmente afetam o metabolismo dos peixes tropicais, acarretando diminuição de apetite e das taxas de crescimento.

Para o lambari, *Astyanax sp*, uma espécie nativa e muito bem adaptada às condições climáticas regionais, o intervalo de variação da temperatura adequado é de 15 a 30°C, o que está dentro dos parâmetros esperados (Vilela & Hayashi, 2001). A temperatura influencia a atividade do peixe, seu consumo de oxigênio e a capacidade de carreamento de oxigênio da água. Com a

diminuição da temperatura, o peixe irá se tranquilizar e até mesmo pode ocorrer sua imobilização, diminuindo seu metabolismo (Ross & Ross, 1999).

Trabalhos utilizando eugenol na anestesia de peixes comprovam que a temperatura da água tem influência na indução e recuperação do anestésico. De acordo com Park et al. (2008), baixas temperaturas requerem maior concentração do eugenol na indução da anestesia e mais lenta será sua recuperação. Vários autores demonstram que em mesmas concentrações dos anestésicos, em temperaturas mais baixas os tempos de indução e de recuperação são significativamente maiores enquanto que nas temperaturas mais altas o tempo de indução e recuperação são significativamente menores (Hikasa et al., 1986; Hoskonen & Pirhonen, 2004b; Woolsey et al., 2004; Mylonas et al., 2005; Park et al., 2008; Park et al., 2009).

2.5. Eugenol

O óleo de cravo é uma substância fenólica obtida da destilação das folhas, caules e flores do cravo -da- índia - *Syzygium aromaticum* (Mazzafera, 2003). Eugenol é o principal componente (70 a 95%) do óleo de cravo. Tem como princípio ativo o (4-alil-2-metoxifenol), considerado seguro para humanos, animais e ambiente. É utilizado como flavorizante na indústria alimentícia e como agente analgésico, antibacteriano, antifúngico.

Atualmente, o eugenol, tem sido objeto de estudo de pesquisadores no mundo todo. Diversos trabalhos demonstram sua eficiência como anestésico por apresentar concentrações eficientes e seguras para os peixes (Taylor & Roberts, 1999) e possuir boa capacidade em reduzir repostas metabólicas ao estresse (Small, 2003). Além disso, seu desempenho é melhor que de outras substâncias já utilizadas (Wagner et al., 2003). Não demonstra efeitos deletérios aparentes no peixe após a sua utilização (Soto & Burhanuddin, 1995; Vidal et al., 2006) e tem rápida excreção, podendo até dispensar o período de depuração (Kildea et al., 2004).

Segundo Roubach et al. (2005), é indicado como anestésico local e bactericida, reduzindo o estresse e preservando a integridade dos peixes. Estudos sobre sua utilização como anestésico em aquicultura, surgiram da

necessidade de se encontrar novas substâncias eficazes, seguras e de baixo custo.

Produtos químicos, como a triclaína metano sulfonato (MS-222), sulfato de quinaldina, benzocaína e fenoxietanol são comumente utilizados como anestésicos para peixes, no entanto efeitos adversos podem ser observados, como perda de muco, irritação das brânquias e danos à córnea (Roubach & Gomes, 2001).

De acordo com Ross & Ross (1999), são necessários 21 dias para comercialização dos peixes que foram submetidos à benzocaína e que serão utilizados para alimentação humana.

Diversos estudos sugerem que o eugenol é uma alternativa efetiva para a sedação de peixes e pode ter vários benefícios sobre outros métodos, principalmente seu baixo custo e elevada disponibilidade (Inoue et al., 2003, Cunha, 2007). Trata-se de um anestésico seguro, de grande eficácia, ampla margem de segurança para o peixe e ausência de toxicidade para o operador nas doses utilizadas para peixes (Keene et al., 1998).

De acordo com Wagner et al. (2002), o eugenol é metabolizado e excretado rapidamente no organismo do animal, não requerendo tempo de carência. Guénette et al. (2007) estudando a farmacocinética do eugenol em truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*), utilizando solução de 75 mg/L por 15 minutos a 4°C, verificaram que é bem absorvido e eliminado pela espécie.

Deriggi et al. (2006) avaliando respostas metabólicas da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) submetidos ao manuseio e eugenol, concluem que é um produto seguro para uso na espécie.

O eugenol é aplicado na água ou aspersão direta nas brânquias. Peixes grandes como o pirarucu (*Arapaima gigas*) com respiração aérea obrigatória, anestesiados por aspersão direta de solução aquosa de eugenol aspergidos nas brânquias em concentrações de 30 e 60 mg/L, como fizeram Honkzaric & Inoue (2009), demonstraram que o eugenol é viável para o pirarucu, não sendo observada mortalidade, mesmo um mês após os testes. Portanto o eugenol borrifado diretamente nas brânquias proporciona anestesia segura para a espécie. O método é importante devido à pouca viabilidade de serem realizados banhos anestésicos em animais de grande e respiração aérea o que dificultaria subir a coluna de água para respirar.

Wagner et al. (2002) concluíram seu trabalho mencionando que o óleo de cravo por sua facilidade de manuseio e resultados, não deixa resíduos na carne e por seu baixo custo, torna-se uma alternativa atraente em substituição ao dióxido de carbono e triclaína metano sulfonato. Ainda sobre a truta arco-íris, Wagner et al. (2003), descrevem a capacidade do eugenol e triclaína metano sulfonato de minimizar o estresse durante o manuseio para dosagens de 60 mg/L de cada anestésico com temperatura de $11,5 \pm 0,5$ concluindo que são poucas as diferenças entre os efeitos de ambos na resposta fisiológica ao estresse. A recomendação é que se use o óleo de cravo pelo menor custo e em situações de estresse que exigem rápida recuperação do peixe.

As concentrações do anestésico óleo de cravo ou eugenol utilizadas para indução rápida, econômica e segura são descritas em diversas espécies de peixes, como mostra a Tabela 1. De acordo com Son et al. (2001), a concentração ótima de um anestésico se dá quando usualmente a indução ocorra dentro de 3 minutos e o mesmo permita recuperação dentro de 10 minutos. Park et al. (2008) recomendam que concentrações do anestésico devem ser adequadas para minimizar os impactos negativos e reduzir o estresse pois tratamentos com doses excessivas são muito estressantes para os peixes, podendo provocar aumento no consumo de oxigênio, da pressão sanguínea e respostas fisiológicas no sangue.

TABELA 1- Doses efetivas de anestésico utilizadas nas diversas espécies.

Peixe	Anestésico	(mg/L)	Referência
Carpa	Óleo de cravo	30 - 40	Hajek et al. (2006), Velisek et al. (2005)
Bagre	Óleo de cravo	30 - 40	Velisek et al. (2006), Small (2003)
Tambaqui	Eugenol	50 - 65	Vidal et al. (2007) , Roubach et al. (2005)
Matrinxã	Eugenol	50	Vidal et al. (2007a)
Pacu	Eugenol	50	Gonçalves et al. (2008)
Dourado	Óleo de cravo	40 a 60	Hisano et al. (2007)
Jundiás	Óleo de cravo	40 - 50	Cunha (2007) Anziliero et al. (2008)
Piau	Eugenol	37,5	Vidal et al. (2007b)
Tilápia	Eugenol	20 - 80	Vidal et al. (2008), Deriggi et al. (2006)
Tilápia	Óleo de cravo	60 -100	Delbon (2006)
Pampo	Eugenol	50	Okamoto et al. (2008)
Truta	Óleo de cravo	40 a 60	Cotter & Rodnick (2006)
Robalo	Óleo de cravo	40	Mylonas et al. (2005)

2.6. Anestesia em lambari

Poucos trabalhos foram produzidos com o uso de anestésicos em peixes do gênero *Astyanax* (lambaris) até o presente momento. Para avaliação dos parâmetros de concentração e tempo de exposição, lambaris (*Astyanax altiparanae*) foram expostos a diferentes concentrações de benzocaína (50, 75, 100 e 125 mg/L) (Gimbo et al., 2008). Foi observado na concentração de 125 mg/L que os peixes atingiram a anestesia profunda rapidamente, porém apresentaram maior mortalidade sete dias após a indução. Assim foi constatado que a concentração de 100 mg/L de benzocaína é a melhor para a indução anestésica do lambari (*Astyanax altiparanae*), proporcionando anestesia profunda rápida, sem afetar a qualidade da água e resultando em baixa mortalidade.

Pereira-da-Silva et al. (2009) avaliaram o efeito anestésico do óleo de cravo em lambaris (*Astyanax altiparanae*) com cinco grupos de 30 alevinos ($0,6 \pm 0,1g$) expostos às concentrações de 50, 75, 100, 125 e 150 mg/L. A anestesia profunda foi alcançada em tempo inferior a 1,5 minuto para todas as concentrações, com recuperação mais rápida e sem mortalidade para 50 mg/L. Para indução à anestesia cirúrgica, foram registrados menores tempos nas concentrações 75 e 100 mg/L; porém, com mortalidade de 80% e 100%, respectivamente. A concentração 50 mg/L promoveu anestesia cirúrgica e recuperação em $3,29 \pm 0,71$ e $4,97 \pm 0,63$ minutos, respectivamente, sem mortalidade. Os autores concluem que o óleo de cravo possui efeito anestésico para alevinos de lambari, sendo 50 mg/L a concentração eficiente e segura para indução à anestesia profunda em até 1,5 minutos e de anestesia cirúrgica em até 3,3 minutos de exposição.

2.7. Oxigênio dissolvido

O oxigênio é o gás mais abundante na água depois do nitrogênio, e também o mais importante, já que nenhum peixe poderia viver sem ele (Arana, 1997). Em seus estudos, Kubitzka, (1999) descreve que níveis máximos e

mínimos de oxigênio dissolvido ocorrem respectivamente, ao final da tarde e ao amanhecer em viveiros de baixa renovação de água.

Na água o oxigênio dissolvido varia entre 0 e 13 mg/L. As águas a 15°C podem conter até 10,05 mg/L de oxigênio dissolvido e com 30°C apenas 7,57 mg/L. De acordo com Arana (1997), as concentrações de oxigênio dissolvido são mais altas a 0°C e decrescem com o aumento da temperatura.

Dependendo da espécie, o excesso de oxigênio dissolvido pode provocar a morte dos peixes por embolia e a falta por asfixia. Peixes tropicais são mais resistentes a baixos níveis de oxigênio do que peixes de águas frias. Níveis de oxigênio abaixo do ideal para a espécie podem provocar estresse, reduzindo a alimentação, aumentando a conversão alimentar, tornando-os mais suscetíveis a doenças. A concentração ideal de oxigênio dissolvido deverá ser mantida em torno de 5 mg/L. A falta de oxigênio pode ser observada pela presença de peixes na superfície da água (Braz-Filho, 2000).

Segundo Sipaúba-Tavares (1994), cada organismo terá seu limite ideal de oxigênio dissolvido na água para sua sobrevivência. Contudo, viveiros contendo valores acima de 4 mg/L apresentam boas condições para criação de organismos aquáticos. Hoskonem & Pirbonem (2004a), trabalhando o efeito da sedação com óleo de cravo no consumo de oxigênio em seis espécies de peixe da zona temperada, com água a 15°C, verificaram que há uma variação no consumo de oxigênio entre as espécies.

2.8. pH

A concentração de ácidos e bases na água determina o seu pH. Portanto o pH reflete o grau de acidez ou de alcalinidade da água. A escala de pH varia de 0 a 14. Como regra geral, valores de pH de 6,5 a 8,0 são mais adequados à produção de peixes. Valores abaixo ou acima desta faixa podem prejudicar o crescimento e a reprodução em condições extremas, causar a morte dos peixes (Kubitza, 1999).

A respiração, fotossíntese, adubação, calagem e poluição são os cinco fatores que causam a mudança de pH na água (Sipaúba-Tavares, 1994). Por isso, segundo Arana (1997), o pH é um parâmetro muito importante a ser

considerado em aquicultura, já que possui um profundo efeito sobre o metabolismo e processos fisiológicos dos peixes e outros organismos aquáticos. Pontos letais de acidez e alcalinidade são de pH 4 e pH 11 respectivamente. Segundo o mesmo autor, valores inferiores a 6,5 diminuem os processos reprodutivos.

2.9. Amônia

O principal produto de excreção dos organismos aquáticos é a amônia. Kubitza (1999), descreve valores de amônia não ionizada acima de 0,20 mg/L como sendo suficientes para induzir toxicidade crônica e levar à diminuição do crescimento e da tolerância dos peixes a doenças. Níveis de amônia entre 0,70 e 2,40 mg/L podem ser letais para os peixes, quando expostos por curto período. Exposição contínua ou freqüente a concentrações de amônia tóxica acima de 0,02 mg/L pode causar intensa irritação e inflamação nas brânquias. Um bom crescimento de peixes pode ser obtido quando a água das unidades de produção apresentar uma concentração de amônia não ionizada inferior a 0,05 mg/L.

As principais fontes de amônia em viveiros de criação são os fertilizantes, os excrementos e os produtos resultantes da decomposição microbiana de compostos nitrogenados (Sipaúba-Tavares, 1994). De acordo com Pereira & Mercante (2005), quanto mais elevado for o pH, maior será a percentagem da amônia total presente na forma NH_3 , não ionizada que é a forma tóxica. Arana (1997), também descreve que pode haver incremento da toxidez da amônia com baixas concentrações de oxigênio dissolvido e temperaturas com valores abaixo do ótimo para crescimento. Níveis elevados da amônia podem causar a mortalidade dos peixes durante o transporte, desde que se acumule na água, podendo alcançar concentrações tóxicas (Ross & Ross, 1999).

Uma das origens dos compostos nitrogenados como a amônia, incorporados à água, principalmente na piscicultura intensiva, é a alimentação. No início das criações, quando a biomassa é menor, são observados baixos níveis de amônia, composto resultante do catabolismo das proteínas que

aumentam proporcionalmente à quantidade de alimento fornecido e ao aumento da biomassa. No caso da criação de peixes carnívoros, esta situação pode ser agravada em virtude dos elevados níveis de proteína usados nas rações (Cavero et al., 2004).

Tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) submetidas a estresse agudo por excesso de amônia (40 mg/L) apresentaram escurecimento da pele e mudança de comportamento natatório, dirigindo-se para o fundo, e a taxa de mortalidade foi de 36% (Xu et al., 2005).

Cavero et al. (2004), ao avaliarem a tolerância de juvenis de pirarucu, (*Arapaima gigas*), a concentrações crescentes de amônia na água, trabalharam com oito peixes, cuja média foi de 2,5 Kg, distribuídos aleatoriamente em quatro tanques (0,8x0,9x2,6 m) com 410 litros de água tamponada com Na₂PO₄ e HCl, na qual permaneceram por 33 dias para verificar a concentração de amônia. O resultado foi de que a glicose plasmática e os níveis de amônia no plasma sanguíneo aumentaram proporcionalmente à concentração de amônia na água o que levou os pesquisadores a sugerir que juvenis de pirarucu toleram altas concentrações de amônia na água, o que é uma característica de grande importância para a sua criação em sistema intensivo.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Local e animais

O experimento foi conduzido durante o período de 30 de junho a 04 de julho de 2009, no Laboratório de Piscicultura da Universidade Católica de Goiás, Campus II, Goiânia-GO.

Os lambaris - *Astyanax sp* (n= 625 com $4,28 \pm 2,75$ g e $6,62 \pm 1,18$ cm) foram adquiridos de piscicultura comercial localizada no município de Goiânia distante 33 km do laboratório. Transportados diariamente da piscicultura até o laboratório, sendo (n=125) por dia, durante cinco dias.

3.2. Tratamentos e delineamento experimental

Foi realizado um delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial (5x5), com cinco repetições por parcela, em um total de 625 peixes, submetidos a cinco concentrações de eugenol de 7,5; 9,5; 11,5; 13,5 e 15,5 mg/L sob cinco diferentes temperaturas (20, 22, 24, 26 e 28°C), totalizando 25 tratamentos com 05 repetições cada. Assim foram utilizados 125 unidades experimentais (parcelas) de 01 litro cada, 05 peixes, o anestésico, onde peixes permaneceram até se observar o início da mortalidade, momento em que encerrava o ensaio.

No primeiro dia, a temperatura da água foi mantida a 20°C, distribuída em cinco caixas, onde receberam as unidades experimentais (parcelas) para o banho-maria, com objetivo de manutenção da temperatura. Cada caixa recebeu cinco unidades experimentais, com a mesma concentração do eugenol sendo uma concentração por caixa, perfazendo 25 parcelas por temperatura num total de 125 peixes.

Nos dias subsequentes, utilizou-se da mesma metodologia para montar o experimento, alterando apenas a temperatura da água para 22, 24, 26 e 28°C respectivamente, como mostra a Figura 2.

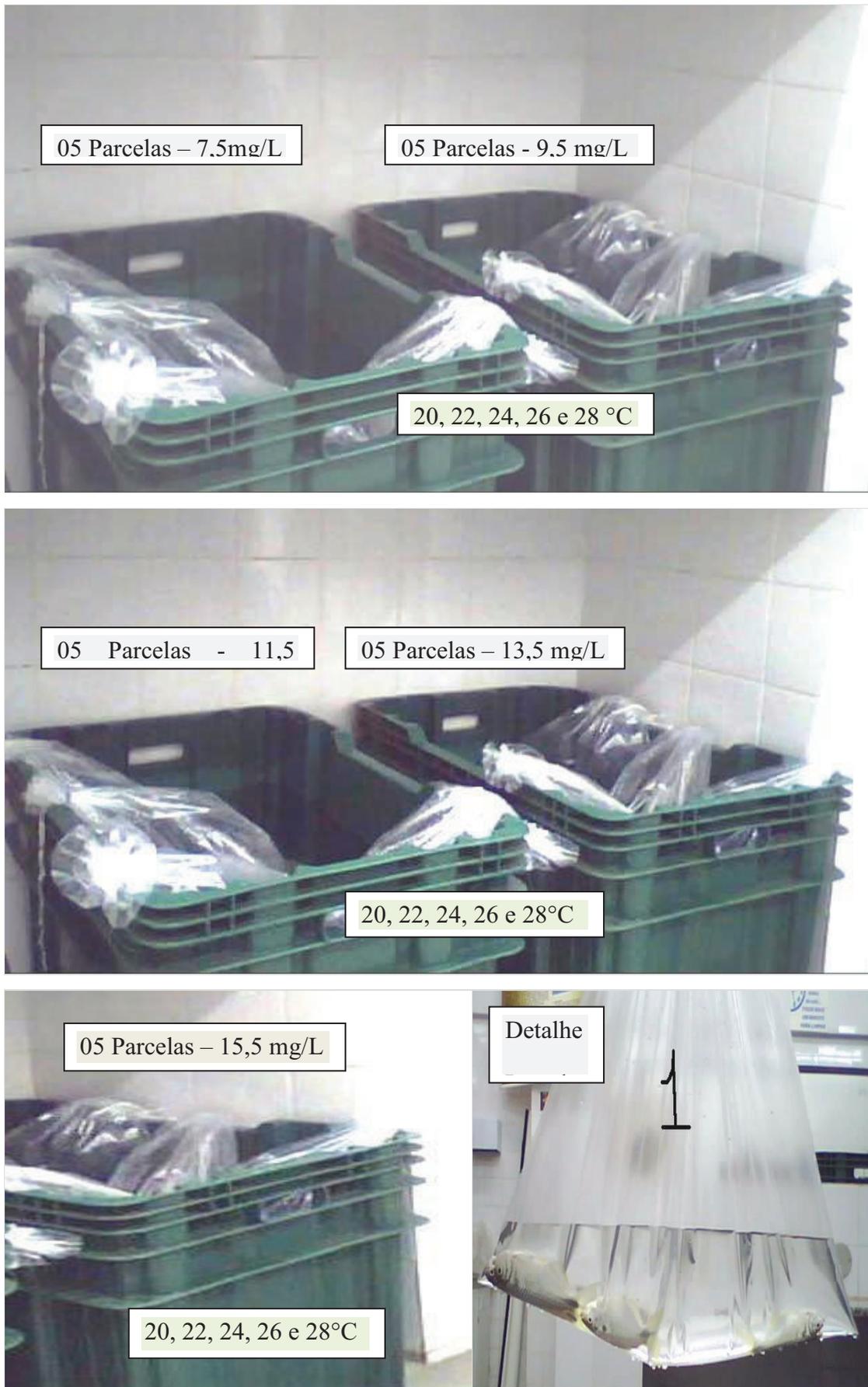


FIGURA 2 – Representação dos tratamentos e delineamento experimental.

3.3. Instalações experimentais

Cinco caixas plásticas com 65x42x33 cm, receberam 65 litros de água para manutenção da temperatura através do banho-maria. Como o experimento foi realizado em um período de baixas temperaturas, no primeiro dia não houve necessidade do uso de aquecedor com termostato, apenas do termômetro de mercúrio para medição. A água utilizada foi de um poço profundo localizado próximo ao laboratório. Nos dias subsequentes foram utilizados aquecedores com termostato (300w), instalados no fundo das caixas, para alcançar a temperatura desejada, conferida com termômetro de mercúrio.

A primeira tarefa realizada no laboratório era colocar a água das caixas na temperatura a ser trabalhada. Após as análises de pH, oxigênio dissolvido e amônia da água já aquecida, coletava-se 01 litro com Becker de plástico graduado (1000 ml) para cada unidade experimental (saco plástico).

Os sacos plásticos utilizados nas unidades experimentais (parcelas) eram transparentes, com capacidade para 05 kg, marcados com um traço na altura da proporção de 3:1 (01 litro de água e 03 de ar). Após receberem a água, os peixes e o anestésico, os sacos plásticos eram amarrados com barbante no traço, numerados, com anotação do horário e colocados nas caixas para manutenção da temperatura em banho-maria. Assim como as cinco repetições das parcelas na primeira caixa com concentração de 7,5 mg/L de eugenol, as demais de 9,5; 11,5; 13,5 e 15,5mg/L eram preenchidas. As medições do anestésico nas concentrações utilizadas foram feitas com uso pipeta de alta precisão, com capacidade de 20 a 200 µL.

3.4. Preparação do eugenol

O anestésico utilizado foi o eugenol produzido pelo Laboratório Biodinâmica Química e Farmacêutica Ltda, com densidade de 1,068 g/mL. Sendo o eugenol um líquido oleoso, foi necessário uma pré-diluição com uma parte de eugenol e dez partes de álcool etílico (92,8%) para preparação da mistura utilizada, conforme mostra a Tabela 2, que indica a proporção dos ingredientes nas doses do anestésico eugenol. A mistura eugenol + álcool foi

preparada a cada dia, momentos antes do início dos tratamentos. Para facilitar o manuseio, foi preparada uma quantidade maior do que a necessária, sendo 10 ml de álcool e 01 ml do eugenol, medidos em pipetas graduadas de 10 e 01 ml, respectivamente. Esta mistura ficou acondicionada em Becker de vidro com capacidade para 20 ml, coberto com papel toalha. Cada concentração do anestésico era utilizada em 01 litro de água.

TABELA 2 – Proporção dos ingredientes nas doses do anestésico eugenol.

Ingredientes	Concentração do Eugenol (mg/L)				
	7,500	9,500	11,500	13,500	15,500
Eugenol (mL)	0,007	0,009	0,011	0,013	0,015
Álcool etílico (mL)	0,070	0,090	0,110	0,130	0,150
Água (mL)	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
Total da mistura (Eugenol +Álcool)	0,077	0,099	0,121	0,143	0,165

3.5. Mortalidade

A cada cinco minutos as unidades experimentais eram observadas na mesma sequência da colocação. O movimento de retirar e colocar os ensaios no banho-maria simulava o transporte, além de facilitar a observação do início da mortalidade dos peixes. Para tanto, levantava-se os ensaios na altura dos olhos para observação dos movimentos operculares, da boca e das nadadeiras. Na ausência dos mesmos, constatava-se o início da mortalidade. Uma vez confirmada, a parcela era retirada do banho-maria, anotado o horário e aberto para análise da água e biometria dos peixes.

3.6. Qualidade da água

A análise da qualidade da água durante o experimento, foi mensurada em dois momentos, sendo o primeiro após a água estar na temperatura a ser trabalhada, antes da composição dos ensaios experimentais e o segundo após o início da mortalidade e abertura dos mesmos. As variáveis analisadas foram: oxigênio dissolvido, pH e amônia.

Na medição do oxigênio dissolvido utilizou-se oxímetro, o qual necessita de calibração antes do uso. O pH foi medido com pHmetro que também necessita de calibração prévia. Já a análise da amônia foi feita por meio de análise química com uso do Ecolit (Amônia Ekotest), onde se coloca 5ml da água a ser analisada em um cubeta, utilizando-se três reagentes. Após 10 minutos procede-se a leitura comparando com a cor padrão.

3.7. Biometria

Após a morte dos peixes, todos foram submetidos à pesagem em balança de precisão e medição do comprimento com o uso do ictiômetro.

3.8. Análise estatística

Em uma análise de variância preliminar, não foram constatadas a presença de interação entre as concentrações de eugenol e as temperaturas. Por esse motivo cada um destes fatores foram analisados separadamente, em uma análise de regressão. Nesta análise, observou-se o efeito significativo da temperatura ou concentração sobre o oxigênio dissolvido, pH e amônia, onde $P < 0,05$. As equações que melhor explicaram a variação do oxigênio dissolvido, pH e amônia em função da temperatura ou função do eugenol foram a linear e quadrática.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Temperatura

O resultado da análise de variância demonstrou que houve interação significativa entre o início da mortalidade dos peixes em função da temperatura ($P < 0,05$), conforme observado na Tabela 3.

TABELA 3 - Análise de variância do tempo da primeira morte em função da temperatura.

Fonte	DF	Soma dos Quadrados	Quadrados Médios	Valor F	Pr < F
Modelo	2	288918	144459	7,74	0,0007*
Erro	122	2277490	18668		
Total	124	2566408			

* $P < 0,05$.

A análise de regressão quadrática do início da mortalidade em função da temperatura, demonstra que temperaturas em torno de 24°C indicam zona de conforto para a espécie, cujo dado está de acordo com parâmetros de temperatura para a espécie citadas por Garutti (2003b) e Vilela & Hayashi (2001). Nota-se também, que temperaturas em torno de 20 e 28°C, os peixes tiveram um tempo de início de mortalidade menor, conforme demonstrado na Figura 3.

Diversos trabalhos demonstram que a temperatura exerce influência nos tempos de indução e recuperação no uso de anestésicos em peixes, o que também pode estar associada ao menor tempo de início da mortalidade encontrada neste experimento. Hikasa et al. (1986), ao estudarem a anestesia em carpa comum (*Cyprinus carpio*), utilizando eugenol nas dosagens de 25 a 100 mg/L em temperaturas de 10 e 20°C, demonstram a influência da temperatura no experimento. Em temperatura de 24°C, houve aumento de indução e facilidade na recuperação sofrida pelo anestésico. Testando o efeito

da temperatura na anestesia de juvenis de steelhead (*Oncorhynchus mykiss*), uma truta da Austrália e Estados Unidos, Woolsey et al. (2004) avaliaram o óleo de cravo nas temperaturas de 11, 15 e 20 °C, em concentrações de 25, 50 e 100 mg/L. Os resultados indicam que o tempo de indução anestésica diminuem significativamente com aumento da temperatura, dose e tempo de recuperação após remover o peixe do anestésico, diminuem significativamente com o aumento da temperatura.

Resultados semelhantes de temperatura de conforto a 24°C foram demonstrados por Park et al. (2009), em concentrações de 100 a 125 mg/L de óleo de cravo em rock bream (*Ophegnatus fasciatus*).

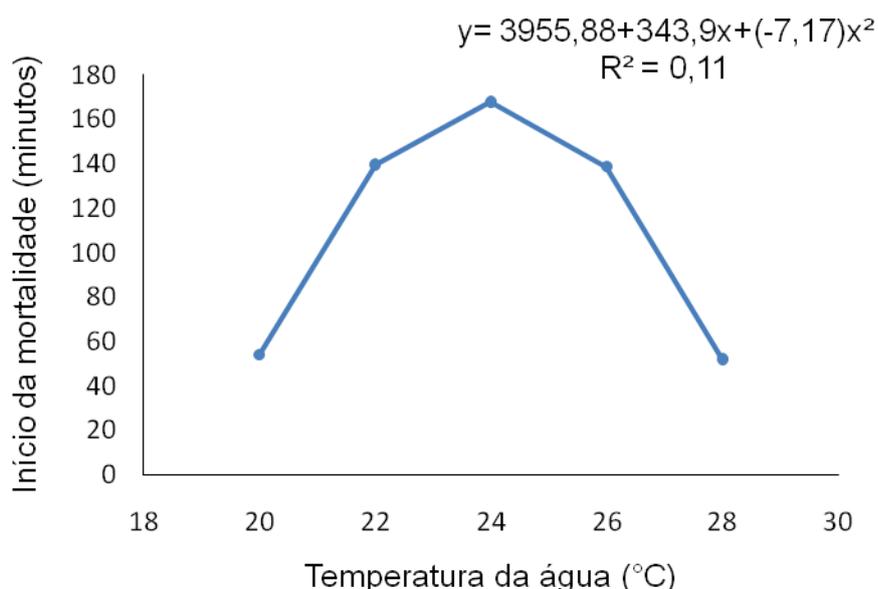


FIGURA 3 – Início da mortalidade dos peixes em função da temperatura da água.

4.2. Concentração do eugenol

Inicialmente, um ensaio experimental com cinco animais foi submetido ao tratamento com álcool etílico (92,8%) na quantidade do maior nível da mistura (álcool + eugenol), ou seja, 0,165 ml em 01 litro de água, para

observação de possíveis reações. Os animais não apresentaram qualquer modificação aparente no comportamento, o que parece certificar que o etanol não provoca reações de anestesia como o eugenol, estando de acordo com resultados apresentados por Mylonas et al. (2005).

A análise de variância demonstra que houve interação significativa do início da mortalidade em relação a concentração do eugenol, como mostra a Tabela 4, onde $P < 0,05$.

TABELA 4 – Análise de variância do tempo da primeira morte em função da concentração do eugenol.

Fonte	DF	Soma dos Quadrados	Quadrados Médios	Valor F	Pr < F
Modelo	1	569109	569109	35,05	<.0001*
Erro	123	1997299	16238		
Total	124	2566408			

* $P < 0,05$.

A equação de regressão linear do tempo de início de mortalidade dos peixes, sugere que as concentrações de eugenol trabalhadas no experimento (7,5 a 15,5 mg/L), estavam dentro dos limites toleráveis para a espécie, conforme demonstra a Figura 4, o que confirma os resultados obtidos por Pereira-da-Silva et al. (2009), que obteve 100% de mortalidade ao anestésiar alevinos de lambari com 100 mg/L de óleo de cravo.

Cooke et al. (2004) estudando o efeito do comportamento e resposta fisiológica do peixe achigã (*Micropterus salmoides*), sob diferentes concentrações de óleo de cravo (0 a 20 mg/L), expostos a condições reais de transporte em caminhão, observaram que as dosagens entre 5 e 9 mg/L proporcionaram os melhores efeitos sedativos, resultando na redução da frequência cardíaca, manutenção do equilíbrio e recuperação rápida, após serem transferidos para água limpa. O efeito positivo na redução do estresse durante o transporte torna viável sua recomendação na sedação dos peixes, a fim de aumentar a segurança nas operações de manejo e transporte. Essas

dosagens estão muito próximas das concentrações utilizadas neste experimento, onde observa-se que concentrações de 7,5 e 9,5 mg/L são as mais adequadas para a sedação dos lambaris. Concentrações entre 11,5 a 15,5 mg/L são sugeridas para a anestesia da espécie. Pode-se observar também na Figura 4, que concentrações acima de 15,5 mg/L estão muito próximas do risco de mortalidade.

Concentrações e 2 a 5 mg/L de eugenol foram utilizadas por Keene & Noakes, (1998) no transporte de truta arco-íris com duração de 6 a 8 horas de percurso.

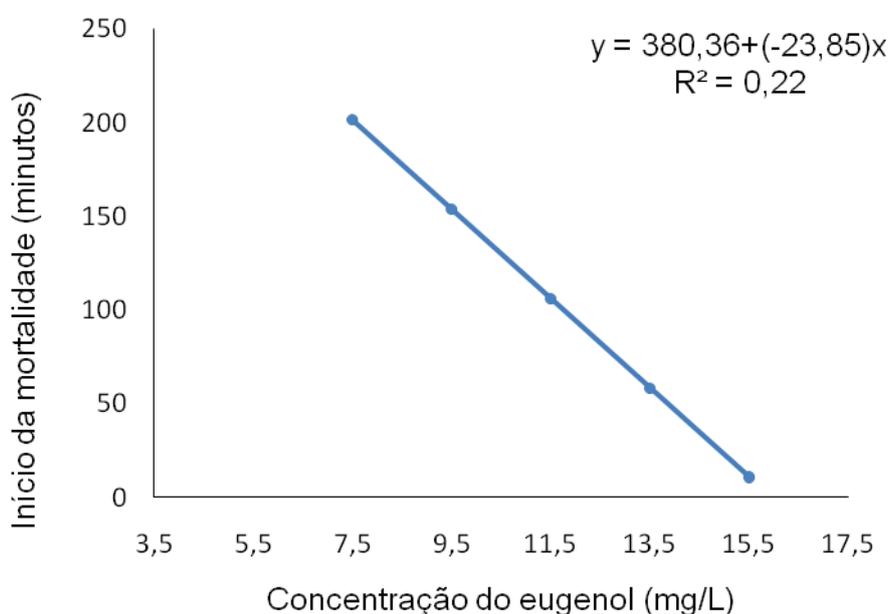


FIGURA 4 – Início da mortalidade dos peixes em função da concentração do eugenol.

4.3. Interação entre temperatura e concentração do eugenol

Alguns trabalhos demonstram a interação entre temperatura e concentração de anestésico. Hoskonen & Pirhonen (2004b) avaliando o efeito de 40 mg/L de óleo de cravo em quatro temperaturas (5, 10, 15 e 20 °C) em seis diferentes espécies de peixe, concluíram que houve interação significativa nos tempos de indução da anestesia em todas as espécies por eles testadas e

entre os tempos de recuperação apenas em uma espécie. Concentrações de 250 -300 mg/L a 18°C; 150-200 mg/L a 22°C; 50-100 mg/L a 26°C foram indicadas como melhor interação entre concentração x temperatura por Park et al. (2008), ao estudarem resposta fisiológica do óleo de cravo na anestesia do peixe kelp grouper (*Epinephelus bruneus*).

No presente estudo, ao se verificar os tempos médios de início de mortalidade dos peixes em função da temperatura e concentração do eugenol, descritos na Tabela 5, constatou-se que não houve interação entre as concentrações de eugenol e as temperaturas e que não foi possível estabelecer um padrão de comportamento. Pode ser que possíveis interações ainda não analisadas podem estar interferindo nessa variável. Sendo assim mais estudos utilizando eugenol, deverão ser feitos para esse gênero de peixes.

TABELA 5 – Tempos médios de início de mortalidade em relação a temperatura e concentração do eugenol.

Tempos médios de início de mortalidade (minutos)					
Conc. (mg/L)	Temperatura				
	20°C	22°C	24°C	26°C	28°C
7,5	112±77	204±63	497±305	181±70	60±52
9,5	66±40	146±87	204±47	292±250	55±28
11,5	64±7	74±9	91±22	225±290	34±6
13,5	55±17	41±4	57±28	40±1	12±2
15,5	42±7	28±6	33±2	28±4	9±2

4.4. Oxigênio dissolvido

O oxigênio dissolvido presente na água após a abertura dos sacos variou de 0,90 a 6,5 mg/L, com média de $3,61 \pm 1,53$, demonstrando que

alguns ensaios ficaram abaixo da recomendação mínima de 4 mg/L para sobrevivência de organismos aquáticos (Sipaúba-Tavares, 1994). A análise de variância, regressão linear, regressão quadrática e cúbica demonstraram significativamente ($P > 0,05$) que a temperatura não influenciou o consumo de oxigênio. Este fato pode ter ocorrido devido ao início da mortalidade dos peixes terem um tempo menor, não interferindo no consumo do oxigênio, pois Kubitzka (2003) demonstra que temperaturas mais baixas diminuem o metabolismo, conseqüentemente o consumo de oxigênio.

O consumo de oxigênio em função da concentração do anestésico sofreu influência significativa ($P < 0,05$), o demonstra o gráfico de regressão linear (Figura 5). Este fato parece certificar que doses adequadas de anestésicos diminuem o metabolismo, o que pode reduzir o consumo de oxigênio, o estresse e a produção de amônia, diminuindo a mortalidade no transporte (Ross & Ross, 1999). Vidal et al. (2008) e Cunha (2007), trabalhando com anestesia em juvenis de jundiás encontraram resultados semelhantes. Hoskonen & Pirhonen (2004a) testando o potencial do óleo de cravo na redução do consumo de oxigênio durante sedação com a finalidade de transporte encontrou diferença significativa entre os animais tratados e não tratados, o que sugere semelhança nos resultados deste trabalho.

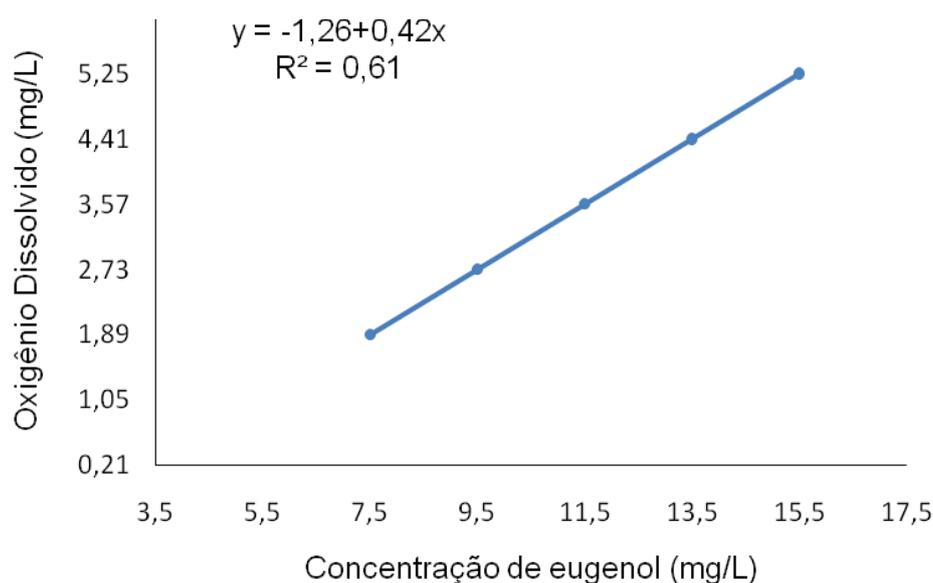


FIGURA 5 – Oxigênio dissolvido em função da concentração do eugenol.

4.5. pH

O pH da água variou de 6,5 a 7,10, estando dentro da faixa adequada para a criação de diversas espécies de peixes estudados e na criação de lambari (Kubitza, 1999; Garutti, 2003b). Esta variável sofreu influência significativa da temperatura e da concentração do eugenol notado na análise de regressão quadrática e linear respectivamente (Figuras 6 e 7).

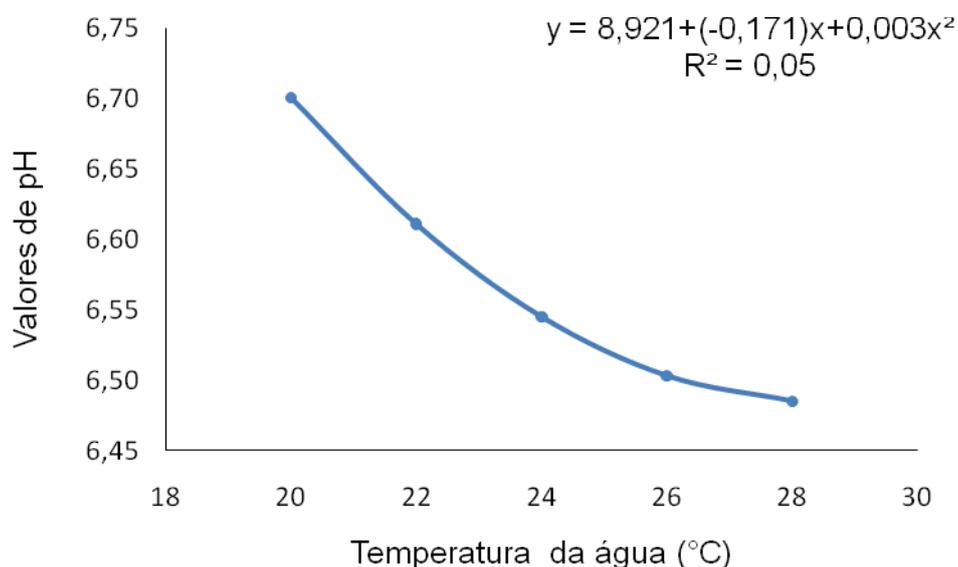


FIGURA 6 – pH em função da temperatura.

A Figura 6 mostra que a medida que ocorre um aumento da temperatura o pH tende a baixar. Como os valores de pH encontrados estão muito próximos da neutralidade, sugere-se que seja devido a qualidade da água utilizada no experimento, captada de um poço profundo. Diversos autores (Roubach et al. 2005, Inoue et al. 2003, Barbosa et al. 2007 e Cunha 2008), trabalhando com eugenol na anestesia de peixes encontraram resultados de pH entre 6,5 e 7,0 o que está de acordo com os resultados encontrados neste trabalho.

A Figura 7 apresenta a reta gerada pela equação de regressão linear, sugere que a medida que aumenta a concentração do anestésico também ocorre um aumento dos valores de pH. Os valores de pH da mistura álcool +

eugenol não foram mensurados durante o experimento, o que pode ter contribuído para essa correspondência já que o álcool etílico utilizado tem pH entre 6,0 e 8,0.

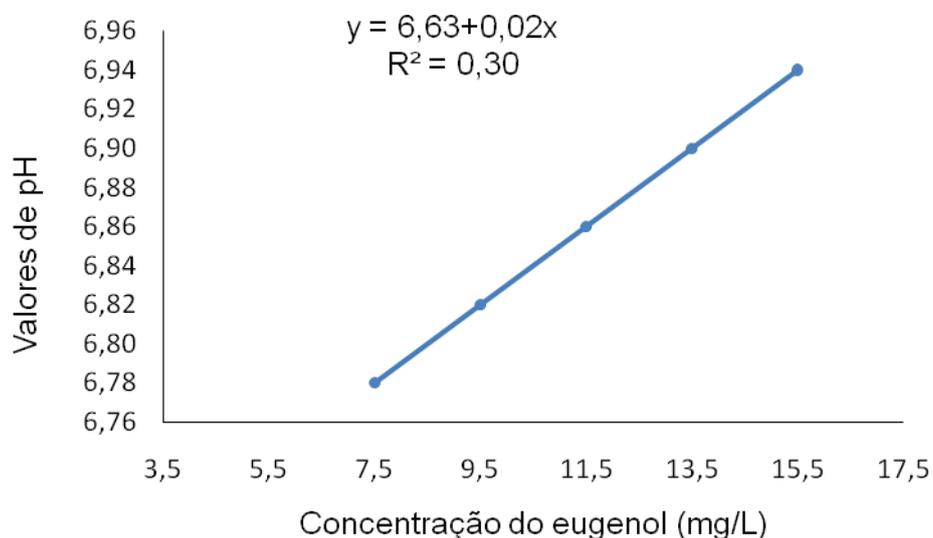


FIGURA 7 – pH em função da concentração do eugenol.

4.6. Amônia

Ao iniciar o experimento, a análise da água mostrou que não havia presença de amônia, ou seja, seu nível foi de 0,00 mg/L. Após a morte do primeiro peixe a quantidade encontrada variou de 0,00 a 1,00 mg/L, com média de $0,33 \pm 0,43$ mg/L. De acordo com Kubitzka (1999), níveis de amônia entre 0,70 e 2,40 mg/L podem ser letais para os peixes, quando expostos por curto período. Pode-se observar que em alguns ensaios o nível de amônia ficou dentro deste intervalo, ou seja, de 0,70 a 2,40 mg/L descritos por Kubitzka, de letalidade. O aumento da amônia está relacionado com a densidade trabalhada, o que era esperado, contribuindo com o processo de excreção nitrogenada dos mesmos. Oliveira (2007), trabalhando com alevinos de tilápias sob a ação do óleo de cravo para transporte também observou incremento da amônia, que passou de 0,05 para 3,59 mg/L corroborando com os resultados encontrados. As análises de variância e regressão linear indicam que a

temperatura e a concentração do eugenol interferem na quantidade de amônia ($P < 0,05$). As Figuras 8 e 9 ilustram a quantidade de amônia em função da temperatura e concentração do eugenol, respectivamente.

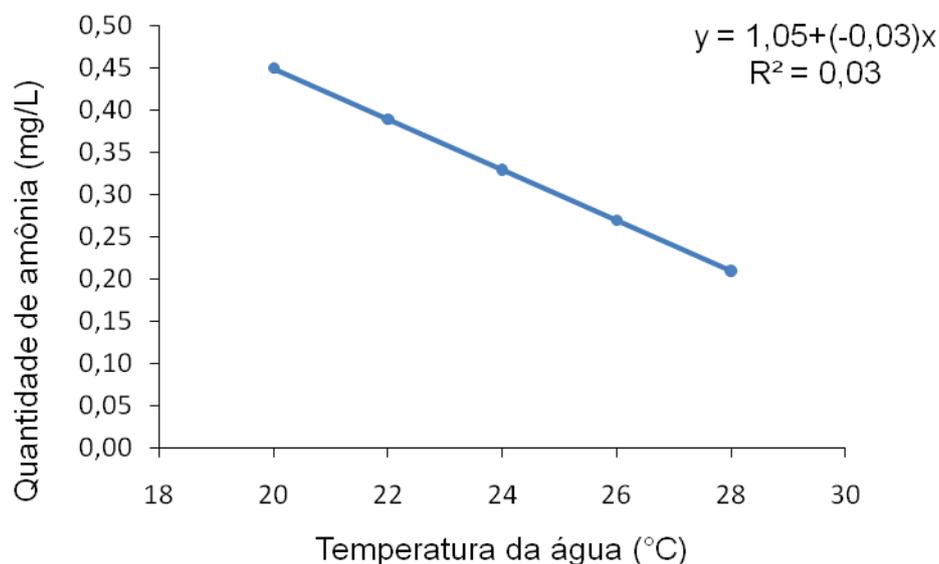


FIGURA 8 – Amônia em função da temperatura.

Pode-se notar que medida que a temperatura aumenta a quantidade de amônia presente na água tende a diminuir. Pode ser que esta situação esteja relacionada com a temperatura de conforto para a espécie que está em torno de 24°C, o que faz diminuir o estresse consequentemente o metabolismo e a excreção de produtos nitrogenados. Nas temperaturas acima de 26°C, a situação pode estar relacionada com o início da mortalidade dos peixes que ocorreram em um menor intervalo de tempo. Oliveira (2008) sugere que concentrações de amônia de 2,6 mg/L são letais a partir de 96 horas. No presente estudo não se encontrou ensaios em que a amônia estivesse acima 1,00 mg/L. Parâmetros semelhantes de quantidade de amônia também foram encontrados nos trabalhos de Small (2003), na anestesia do bagre; Park et al. (2009), em rock bream e Pereira-da-Silva em anestesia de lambari.

A Figura 9 mostra a quantidade de amônia encontrada na água após o início da mortalidade em função da concentração do eugenol. Da mesma forma, sugere-se que a medida que a concentração do eugenol aumenta a

quantidade de amônia tende a diminuir, o que parece estar relacionado com o nível de sedação ou anestesia. Concentrações acima de 11,5 mg/L sugerem anestesia mais profunda, o que pode diminuir o metabolismo e a excreção de produtos nitrogenados.

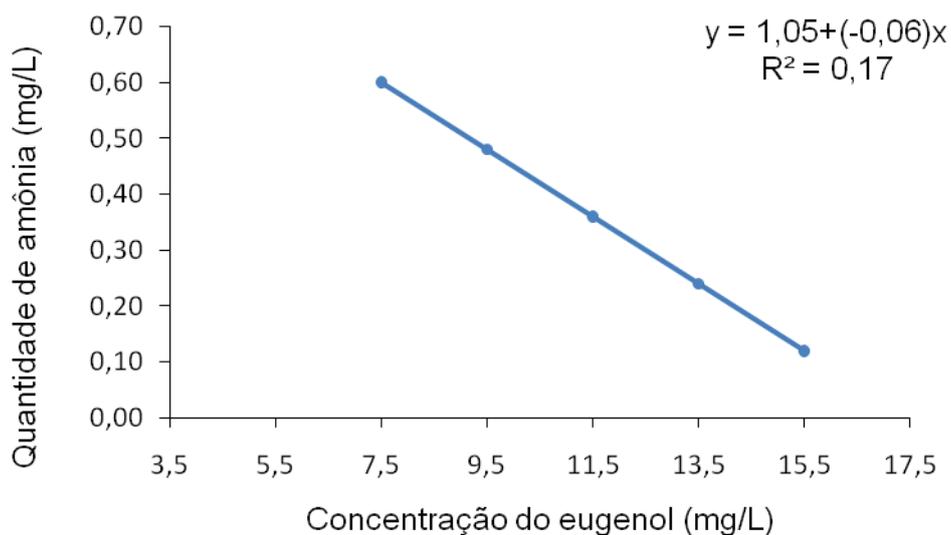


FIGURA 9 – Amônia em função da concentração do eugenol.

5. CONCLUSÃO

Os melhores resultados de sobrevivência de lambaris (*Astyanax sp*), com a finalidade de transporte foram obtidos com temperatura da água de 24°C e concentração de eugenol na faixa de 7,5 a 9,5 mg/L.

Diante de poucos trabalhos utilizando eugenol em lambaris, sugere-se novas pesquisas, com estudos utilizando novos parâmetros de qualidade da água, como, condutividade elétrica e a anestesia com seus estágios de indução e recuperação.

6. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

ABREU, J.S.; SANABRIA-OCHOA, A.I.; GONÇALVES, F.D.; URBINATI, E.C. Stress responses of juvenile matrinxã (*Brycon amazonicus*) after transportin a closed system under different loading densities. **Ciência Rural**, v.38, n.5, ago, 2008.

ADAMANTE, W.B. **Estresse de alevinos de dourados e mandi sob diferentes densidades e tempo de transporte**. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Santa Catarina, 2005.

ALMEIDA, R.B.C. ***Astyanax altiparanae* (Pisces, Characiformes) como modelo biológico de espécie de peixe para exploração zootécnica e biomanipulação**. Tese de doutorado. Universidade Estadual Paulista – UNESP Instituto de Biociências de Botucatu, 2007. 119 p.

ANZILIERO, D.; KREUTZ, C.L.; BARCELLOS, G.J.L. Avaliação de quatro diferentes anestésicos para sua utilização no manejo de jundiás (*Rhamdia quelen*). **Anais... COMBRAVE**, 2008.

ARANA, V.L. **Princípios químicos de qualidade da água**. Editora da UFSC- Florianópolis, 1997. 166p

BARCELLOS, L.J.G.; SOUZA, S.M.G. de; WOEHL, V.M. Estresse em peixes: fisiologia da resposta ao estresse, causas e consequências (revisão). **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 26, p. 99-111, 2000.

BARBOSA, L.G.; GILBERTO MORAES, G.; INOUE, L.A.K.A. Respostas metabólicas do matrinxã submetido a banhos anestésicos de eugenol. **Acta Scientiarum Biological Science**, v. 29, n. 3, p. 255-260, 2007.

BARTON, B.A. Stress. In: Stickney, R.R. (Ed.). **Encyclopedia of Aquaculture**. John Wiley and Sons, p. 892-898. 2000.

BRANDÃO, F.R.; GOMES, L.C.; CHAGAS, E.C.; Respostas de estresse em pirarucu (*Arapaima gigas*) durante práticas de rotina em piscicultura. **Acta Amazônica**. v. 36, n. 3, p. 349-356, 2006.

BRAZ-FILHO, M.S.P.; **Qualidade na Produção de Peixes em Sistema de Recirculação de Água**. Dissertação de mestrado. USP - 2000.

CAVERO, B.A.S.; PEREIRA-FILHO, M.; BORDINHON, A.M.; FONSECA, F.A.L.; ITUASSÚ, D.R.; ROUBACH, R.; ONO, E.A.; Tolerância de juvenis de pirarucu ao aumento da concentração de amônia em ambiente confinado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.39, n.5, p.513-516, 2004.

COOKE, S.J.; SUSKI, C.D.; OSTRAND, K.G.; TUFTS, B.L.; WAHL, D.H. Behavioral and physiological assessment of low concentrations of clove oil anaesthetic for handling and transporting largemouth bass (*Micropterus salmoides*). **Aquaculture** v. 239, p. 509-529, 2004.

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

CUNHA, M.A. da. **Anestesia em jundiás (*Rhamdia quelen*) expostos a substâncias isoladas de plantas**. 2007. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós Graduação em Produção Animal, Universidade Federal de Santa Maria, 2007.

DELBON, M.C. **Ação da benzocaína e do óleo de cravo sobre parâmetros fisiológicos de tilápia, *Oreochromis niloticus***. Dissertação (Mestrado em Aquicultura), Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Centro de Aquicultura, Jaboticabal, 91 p, 2006.

DERIGGI, G.F.; INOUE, L.A.K.A.; MORAES, G.; Stress responses to handling in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus Linnaeus*): assessment of eugenol as an alternative anesthetic. **Acta Scientiarum Biological Science**, v. 28, n. 3, p. 269-274, 2006.

DIAS, R.M.; BAILLY, D.; RIBEIRO- ANTÔNIO, R.; HARUMI IRENE SUZUKI, H.; AGOSTINHO, A.A. Colonization of the Corumbá Reservoir (Corumbá River, Paraná River Basin, Goiás State, Brazil) by the "lambari" *Astyanax altiparanae* (Tetragonopterinae; Characidae). **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 48, n. 3, p. 467-476, 2005.

FAVA, L. **Variação cariotípica de *Astyanax bimaculatus* (Linnaeus, 1758) (Pisces: Characidae) nas bacias costeiras do Brasil**. Dissertação de Mestrado – Universidade Federal de Viçosa –MG, 2008.

GARUTTI, V. Revalidação de *Astyanax rupununi* Fowler, 1914 (*Teleostei, Characidae*) e descrição de duas espécies novas para o gênero. **Papéis Avulsos de Zoologia Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo**. v 43, n. 1 p. 1-9, 2003a.

GARUTTI, V.; **Piscicultura Ecológica**. Editora UNESP - São Paulo, 2003b. 322p.

GIMBO, R.Y.; SAITA, M.V.; GONÇALVES, A.F.N.; TAKAHASHI, L.S.; Diferentes concentrações de benzocaína na indução anestésica do lambari-do-rabo-amarelo (*Astyanax altiparanae*). **Revista Brasileira Saúde Produção Animal**, v.9, n.2, p. 350-357, 2008.

GOMES, L.C.; ARAÚJO-LIMA, C.A.R.M.; ROUBACH, R.; CHIPARRI-GOMES, A.R.; LOPES, N.P.; URBINATI, E.C. Effect of fish density during transportation on stress and mortality of juvenile tambaqui (*Colossoma macropomum*). **Journal of the World Aquaculture Society**, v. 34, n.1, p. 76-84, 2003.

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 Scientiarum Animal Science**, v. 30, n. 3, p. 339-344, 2008.

GUÉNETTE, S.A.; UHLAND, F.C.; HÉLIE, P.; F. BEAUDRY, F.; VACHON, P. Pharmacokinetics of eugenol in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aquaculture**, v. 266, p. 262-265, 2007.

HAJEK, J.G.; KEYSZEJKO, B.; DZIAMAN, R. The anaesthetic effect of clove oil on common carp, (*Cyprinus carpio*). **Acta Ichthyologica et Piscatoria**, v. 36, n. 2, p. 93-97, 2006.

HIKASA, Y.; TAKASE, K.; OGASAWARA, T.; OGASAWARA, S. Anesthesia and recovery with tricaine methanesulfonate, eugenol and thiopental sodium in the carp (*Cyprinus carpio*). **Japanese Journal of Veterinary Science**, v.48, p. 341-351, 1986.

HISANO, H.; ISHIKAWA, M.M.; FERREIRA, R.de A.; BULGARELLI, A. L.A.; COSTA, T. R.; PÁDUA, S. B. de. **Óleo de cravo como anestésico para juvenis de dourado**. Trabalho apresentado no I Congresso Brasileiro de Peixes de Água Doce-MS, 2007

HONCZARYK, A.; INOUE, L.A.K.A. Anestesia do pirarucu por aspersão direta nas brânquias do eugenol em solução aquosa. **Ciência Rural**, v. 39, n. 2, mar-abr, 2009.

HOSKONEN, P.; PIRHONEN, J. The effect of clove oil sedation on oxygen consumption of six temperate-zone fish species. **Aquaculture Research**, v. 35, p. 1002-1005, 2004a.

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

IBAMA, **Estatística da Pesca**, Instituto Brasileiro do Meio Ambiente. Brasil: Grandes Regiões e Unidades da Federação, Brasília, 2007. 151p.

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

INOUE, L.A.K.A.; MORAES, G.; IWAMA, G.K. AFONSO, L.O.B. Effects of clove oil on the stress response of matrinxã (*Brycon cephalus*) subjected to transport. **Acta Amazonica**, v. 35, n. 2, p. 289-295, 2005.

INOUE, L.A.K.A.; MORAES, G.; IWAMA, G.K.; AFONSO, L.O.B. Physiological stress responses in the warm-water fish matrinxã (*Brycon amazonicus*) subjected to a sudden cold shock. **Acta Amazonica**, v. 38, n. 3, p. 603-610, 2008.

IVERSEN, M.; FINSTAD, B.; NILSSEN, K.J. Recovery from loading and transport stress in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) smolts. **Aquaculture**, v. 168, p. 387-394, 1998.

KAVALCO, K. F.; **Estudos Evolutivos no Gênero *Astyanax* (Pisces, Characidae)**. Tese de Doutorado – Universidade de São Paulo, 2008, 223p.

KEENE, J.L.; NOAKES, D.L.G.; MOCCIA, R.D.; SOTO, C.G. The efficacy of clove oil as an anaesthetic for rainbow trout, (*Oncorhynchus mykiss*) (Walbaum). **Aquaculture Research**, v. 29, n. 2, p. 89-101, 1998.

KILDEA, M.A.; ALLAN, G.L.; KEARNEY, R.E. Accumulation and clearance of the anesthetics clove oil and AQUI-S™ from the edible tissue of silver perch (*Bidyanus bidyanus*). **Aquaculture**, v. 232, p. 265-277, 2004.

KUBITZA, F. **Qualidade da água na produção de peixes**. 3 edição revisada, Jundiaí- Degaspari, 1999. 97 p.

KUBITZA, F. Amenizando as perdas de alevinos após o manejo e o transporte. **Panorama da Aquicultura**, v. 13, n. 80 p. 15-25, 2003.

LIMA, L.C.; RIBEIRO, L.P.; LEITE, R.C.; MELO, D.C. Estresse em peixes. **Revista Brasileira Reprodução Animal**, v.30, n.3/4, p.113-117, 2006.

LIMA, F.C.T., MALABARBA, L.R., BUCKUP, P.A., SILVA, J.F.P., VARI, R.P., HAROLD, A., BENINE, R., OYAKAWA, O., PAVANELLI, C.S., MENEZES, N.A., LUCENA, C.A.S., MALABARBA, M.C. S.L., LUCENA, Z.M.S., REIS, R.E., LANGEANI, F., CASATTI, L., BERTACO, V.A., MOREIRA, C.; LUCINDA, P.H.F. **Genera Incertae Sedis in Characidae. In Check List of Freshwater Fishes of South and Central America** (R.E. Reis, S.O. Kullander & C. J. Ferraris-Jr, orgs.). EDIPUCRS, Porto Alegre, p. 106-169, 2003.

MAZEAUD, M.M.; MAZEAUD, F.; DONALDSON, E.M. Primary and secondary effects of stress in fish: some new data with a general review. **Transactions of the American Fisheries Society**, v. 106, p. 201-212, 1977.

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

MYLONAS, C.C.; CARDINALETTI, G.; SIGELAKI, I.; POLZONETTI-MAGNI, A. Comparative efficacy of clove oil and 2-phenoxyethanol as anesthetics in the aquaculture of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and gilthead sea bream (*Sparus aurata*) at different temperatures. **Aquaculture**, v. 246; p. 467-48, 2005.

OKAMOTO, M.H.; TESSER, M.B.; LOUZADA, L.R.; SANTOS, R.A. dos; SAMPAIO, L.A. Benzocaína e eugenol como anestésicos para juvenis do pampo (*Trachinotus marginatus*). **Ciência Rural Online**, Santa Maria, 2008. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782008005000100&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 01 Jun 2009.5 p.

OLIVEIRA, J.R. **Sobrevivência de alevinos e juvenis de tilápia, *Oreochromis niloticus*, linhagem chitralada, sob a ação do cloreto de sódio, benzocaína e óleo-de-cravo-da-índia para transporte**. Dissertação de mestrado da Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2007. 52 p.

PALIC, D., HEROLT, D.M.; ANDREASEN, C.B.; MENZEL, B.W.; ROTH, J.A. Anesthetic efficacy of tricaine methanesulfonate, metomidate and eugenol: Effects on plasma cortisol concentration and neutrophil function in fathead

minnows (*Pimephales promelas Rafinesque*). **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.

PARK, M.O.; IM, S.Y.; SEOL, D.W.; PARK, I.S. Efficacy and physiological responses of rock bream, (*Oplegnathus fasciatus*) to anesthetization with clove oil. **Aquaculture**, v. 287, p. 427-430, 2009.

PEDRAZZANI, A.S.; MOLENTO, C.F.M.; CARNEIRO, P.C.F.; CASTILHO, M.F.; Senciência e bem-estar de peixes uma visão de futuro do mercado consumidor. **Panorama da AQUICULTURA**, julho/agost, p. 25-29, 2007.

PEREIRA-DA-SILVA, E.M; OLIVEIRA R.H.F.; RIBEIRO, M.A.R.; COPPOLA, M.P.; Efeito anestésico do óleo de cravo em alevinos de lambari. **Ciência Rural Santa Maria Online**. Junho, 2009.

PEREIRA, L.P.F.; MERCANTE, C.T.J. A amônia nos sistemas de criação de peixes e seus efeitos sobre a qualidade da água. Uma revisão. **Boletim Instituto Pesca**, v. 31, n. 1, p. 81-88, 2005.

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

ROUBACH, R.; GOMES, L. Uso de anestésicos durante o manejo de peixes. **Panorama da Aquicultura**, v. 11, n. 66, p. 37-40, 2001.

ROUBACH, R.; GOMES, L.C.; FONSECA, F.A.L.; VAL, A.L. Eugenol as an efficacious anaesthetic for tambaqui, (*Colossoma macropomum*) (Cuvier). **Aquaculture Research**, vol. 36, p. 1056-1061. 2005.

SAPOLSKY, R.M.; ROMERO, L.M.; MUNCK, A.U. How do Glucocorticoids Influence Stress Responses? Integrating Permissive, Suppressive, Stimulatory, and Preparative Actions. **Endocrine Reviews**, v. 21, p. 55-89, 2000.

SCHRECK C.B.; CONTRERAS-SANCHEZ, W.; FITZPATRICK, M. S. Effects of stress on fish reproduction, gamete quality, and progeny. **Aquaculture**, v. 197, p. 3-24, 2001.

SCORVO-FILHO, J.D. **O Agronegócio da aquicultura: perspectivas e tendências**. Texto técnico - Instituto de Pesca de São Paulo, 2004. 9 p.

SIPAÚBA-TAVARES, L.H.S. **Limnologia aplicada à aqüicultura**. Jaboticabal: FINEP, 1994. 70p.

SMALL, B.C. Anesthetic efficacy of metomidate and comparison os plasma cortisol responses to tricaine methanesulfonate, quinaldine and clove oil anesthetized channel catfish *Ictalurus punctatus*. **Aquaculture**, v. 218, p. 177-185, 2003.

- SMALL, B.C. Rotine measures of stress are reduced in mature catfish during and after AQUI-S anesthesia and recovery. **North American Journal of Aquaculture**, v. 67, p. 72-78, 2005.
- SON, M.H.; PARK, M.W.; MYEONG, J.M.; KIM, D. J.; KIM, B.H.; JO, Q.; JEON, I.G. Anaesthetic Tolerance of Juvenile Black Rockfish *Sebastes schlegeli*, Produced for Wild Stock Enhancement. **Ocean and Polar Research**, v. 23, n. 3, p. 285-290, 2001.
- SOTO, C.S., BURHANUDDIN. Clove oil as a fish anaesthetic for measuring length and weight of rabbitfish (*Siganus lineatus*). **Aquaculture**, v. 136, p. 149-152, 1995.
- TAYLOR, P.W.; ROBERT, S.D. Clove Oil: An Alternative Anaesthetic for Aquaculture. **North American Journal of Aquaculture**, v. 61, p. 150-155, 1999.
- URBINATI, E.C.; CARNEIRO, P.C.F. Práticas de manejo e estresse dos peixes em piscicultura. In: CYRINO, J.E.P. *et al.* (Ed.). Tópicos especiais em piscicultura de água doce tropical intensiva. São Paulo: TecArt; **Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia Aquática**, p. 171-194. 2004.
- VELISEK, J.; SVOBODOVA, Z.; PIACHOCA, V.; GROCH, L.; NEPEJCHAOVA, L.; Effects of clove oil an aesthesia on common carp (*Cyprinus carpio L.*) **Veterinary Medicine**, v. 50, p. 269-275, 2005.
- VELISEK, J.; WLASOW, T.; GOMULKA, P.; SVOBODOVÁ, Z.; L. NOVOTN, L.; ZIOMEK, E. Effects of Clove Oil Anaesthesia on European Catfish (*Silurus glanis L.*). **Acta Veterinaria Brno**, v. 75, p. 99-106, 2006.
- VIDAL, L.V.O.; ALBINATI, R.C.B.; ALBINATI, A.C.L.; DE MACÊDO, G.R. Utilização do Eugenol como Anestésico para o Manejo de Juvenis de Pintado (*Pseudoplatystoma corruscans*). **Acta Scientiarum Biological Sciences**, v. 28, n. 3, p. 275-279. 2006.
- VIDAL, L.V.O.; ALBINATI, R.C.B.; SANTOS NETO, E. B.; DEUS, B.T.; ALBINATI, A. C. L.; Influência do peso de juvenis de matrinxã (*Brycon cephalus*) e tambaqui (*Colossoma macropomum*) à ação anestésica do eugenol. **Revista Brasileira Saúde Produção Animal**, v. 8, n. 3, p. 212-216, 2007a.
- VIDAL, L. V.O.; FURUYA, W.M.; GRACIANO, T. S.; SCHAMBER, C.R.; SANTOS, L.D. dos; SOARES, C. M. Concentrações de Eugenol para anestesia profunda e toxicidade aguda em juvenis de piavuçu (*Leporinus macrocephalus*). **Acta Scientiarum Biological Science**, v. 29, n. 4, p. 357-362, 2007b.
- VIDAL, L.V.O.; ALBINATI, R.C.B.; ALBINATI, A.C.L.; LIRA, A.D. de; ALMEIDA, T.R.; SANTOS, G.B. Eugenol como anestésico para a tilápia-do-nilo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 43, n. 8, p. 1069-1074, 2008.

VIEIRA, J.S.; GOMIERO, J.S.G.; DIONÍZIO, M.A.; LOGATO, P.V.R.;
ASPECTOS GERAIS DA PISCICULTURA. Editora UFLA, (Boletim Técnico),
2003.

VILELA, C; HAYASHI, C.; Desenvolvimento de juvenis de lambari *Astyanax bimaculatus* (Linnaeus, 1758), sob diferentes densidades de estocagem em tanques-rede. **Acta Scientiarum**, v. 23, n. 2, p. 491-496, 2001.

WAGNER, E; ARNDT, R.; HILTON, B. Physiological stress responses, egg survival and sperm motility for rainbow trout broodstock anaesthetized with clove oil, tricaine methanesulfonate or carbon dioxide. **Aquaculture**, v. 211, n. 1-4, p. 353-366, 2002.

WAGNER, G.N.; SINGER, T.D.; MCKINLEY, R.S.; The ability of clove oil and MS-222 to minimize handling stress in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss Walbaum*). **Aquaculture Research**, v. 34, p. 1139-1146, 2003.

WOOLSEY, J.; HOLCOMB, M.; INGERMANN, R.L.; Effect of Temperature on Clove Oil Anesthesia in Steelhead Fry. **North American Journal of Aquaculture**, v. 66, p. 35-41, 2004.

XU, J.; MIAO, X.; LIU, Y.; CUI, S. Behavioral response of tilapia (*Oreochromis niloticus*) to acute ammonia stress monitored by computer vision. **Journal of Zhejiang University Science**, v. 6B, n. 8, p. 812-816, 2005.