

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

EFEITO DA TEMPERATURA DA ÁGUA E DA SEDAÇÃO COM EUGENOL NA
SOBREVIDA DO PLATI (*Xiphophorus maculatus* Günther)

JANETH TERESINHA COELHO PACHECO

Goiânia - GO

2009

JANETH TERESINHA COELHO PACHECO

**EFEITO DA TEMPERATURA DA ÁGUA E DA SEDAÇÃO COM EUGENOL NA
SOBREVIDA DO PLATI (*Xiphophorus maculatus* Günther)**

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.

Orientador: Prof^o. Dr. Breno Faria e Vasconcellos

Goiânia - GO

2009

P116e Pacheco, Janeth Teresinha Coelho.

Efeito da temperatura da água e da sedação com eugenol na sobrevida do plati (*Xiphophorus maculatus* Günther) / Janeth Teresinha Coelho Pacheco. – 2009.

28 f. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Católica de Goiás, Mestrado Profissional – Tecnologia em Aquicultura Continental, 2009.

“Orientador: Prof. Dr. Breno Faria Vasconcellos”.

1. Piscicultura ornamental – Brasil. 2. Peixe ornamental - plati (*Xiphophorus maculatus* Günther) – transporte – sobrevida – sedação – eugenol. I. Título.

CDU: 639.34(81)(043.3)

JANETH TERESINHA COELHO PACHECO

**EFEITO DA TEMPERATURA DA ÁGUA E DA SEDAÇÃO COM EUGENOL NA
SOBREVIDA DO PLATI (*Xiphophorus maculatus* Günther)**

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.

Data da aprovação: 30/09/2009

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

Profa. Dra. Maria Eloísa Cardoso da Rosa
Universidade Católica de Goiás – Avaliadora Interna

Dra. Flávia de Almeida Tavares
Examinador Externo - MPA

Dedicatória

Dedico este trabalho à minha família,

Pela ajuda e compreensão em todos os momentos.

Agradecimentos

Ao Ministro da Pesca e Aqüicultura, Dr. Altemir Gregolin e ao Deputado Federal Pedro Wilson Guimarães, que não mediram esforços na viabilização do curso.

Ao Sr. Adilon de Souza, Presidente da Câmara Setorial de Aquicultura de Goiás e padrinho da turma, por ter sido um dos mentores desta idéia.

Ao Prof. Dr. Breno de Faria e Vasconcellos, pela orientação, competência, serenidade e paciência em todos os momentos.

Aos Professores do MPAC pelos ensinamentos, solidariedade e companheirismo.

Aos Drs. Ailton Vitor Pereira e Elaine Barbosa Carvalho Pereira, pela valiosa orientação e colaboração nas análises estatísticas.

Ao Sr. Crésio Gomes de Moraes, pela confiança e consideração recebidas.

Aos meus colegas e amigos de mestrado e EMATER, pelo compartilhamento de todas as lutas.

À minha mãe e ao meu pai (in memoriam), pelo amor incondicional, apoio e exemplo recebido.

Aos meus irmãos, pelo amor e companheirismo.

Aos meus amores, Luis Henrique e Luca, por todo amor, apoio e incentivo.

E a todos que de alguma forma me ajudaram a cumprir mais esta etapa.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS.....	viii
LISTA DE FIGURAS.....	ix
RESUMO.....	x
ABSTRACT.....	xi
1. INTRODUÇÃO.....	01
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	03
2.1 A espécie.....	05
2.2 O estresse.....	06
2.3 O transporte de peixes vivos.....	08
2.4 Temperatura.....	10
2.5 O pH da água.....	11
2.6 Oxigênio dissolvido.....	11
2.7 Amônia.....	12
2.8 O eugenol e seu uso como anestésico e sedativo na aquicultura....	12 3.
MATERIAL E MÉTODOS.....	14
3.1. Local.....	14
3.2.Delineamento estatístico e tratamentos.....	14
3.3 Condução do experimento.....	14
3.4 Avaliações e procedimento estatístico.....	16
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	19
5. CONCLUSÕES.....	24
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	25

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1. Descrição dos estágios anestésicos e dos comportamentos, em peixes.....05
- Tabela 2. Preparo das soluções experimentais de eugenol a partir da solução estoque, para 100 ml de água.....14
- Tabela 3. Resumo das análises de variância para o tempo decorrido até a morte do primeiro peixe da parcela e a concentração de oxigênio dissolvido na água.....19
- Tabela 4. Resumo das análises de variâncias para os efeitos das concentrações de eugenol sobre o tempo decorrido até a morte do primeiro peixe da parcela, em cada temperatura.....20
- Tabela 5. Doses efetivas de eugenol, usadas nas diversas espécies de peixe, sob diferentes temperaturas20
- Tabela 6. Resumo das análises de variâncias para os efeitos das concentrações de eugenol sobre a concentração de oxigênio dissolvido na água de cada parcela, em cada temperatura.....22

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Exemplar de plati	06
Figura 2. Preparo das caixas com água nas diferentes temperaturas.....	15
Figura 3. Análise inicial da água e preparo das parcelas.....	16
Figura 4. Disposição das parcelas nas caixas em banho-maria e observação dos movimentos operculares dos peixes em cada parcela com o auxílio da lupa.....	17
Figura 5. Análise final da água, biometria do peixe morto e recuperação dos demais em água com aeração constante.....	18
Figura 6. Curva do tempo decorrido até a morte do primeiro peixe da parcela (IM) em função da temperatura da água (T) e da concentração de eugenol (E).....	21
Figura 7. Concentração de oxigênio dissolvido na água da parcela em função da temperatura da água e da concentração de eugenol.....	23

RESUMO

Este trabalho avaliou a ação sedativa de seis diferentes concentrações de eugenol (0, 3, 5, 7, 9 e 12 mg/L de água) e cinco temperaturas de água (22, 24, 26, 28 e 30°C) no tempo para o início da mortalidade em juvenis de plati (*Xiphophorus maculatus*), visando permitir altas densidades, otimizando os custos com os serviços de transporte pela redução no peso total das cargas.

Foram utilizados 600 peixes com $0,61 \pm 0,3$ g e $3,2 \pm 0,53$ cm, em 04 repetições de 5 peixes por parcela (saco plástico) por temperatura e concentração, totalizando 30 tratamentos. Os resultados obtidos mostraram que o tempo decorrido até a morte do primeiro peixe de cada parcela e a concentração de oxigênio dissolvido na água tiveram influência altamente significativa da temperatura (T), da concentração do eugenol (E) e da interação entre esses (TxE). Este trabalho sugere que o tempo decorrido até a morte do primeiro peixe e a concentração de oxigênio dissolvido na água sejam influenciados de modo interativo, pela temperatura da água e a concentração de eugenol. O eugenol propicia maior tempo de sobrevivência dos peixes quando diluído na água nas concentrações em torno de 8 mg.L⁻¹ a 22°C e 9 mg.L⁻¹ a 24°C, mas não tem efeito em temperaturas maiores.

Palavras-chave: peixe ornamental, óleo de cravo, temperatura, interação, concentração, altas densidades e transporte.

ABSTRACT

This study evaluated the sedative action of six eugenol concentrations (0, 3, 5, 7, 9 and 12 mg/L water) and five water temperatures (22, 24, 26, 28 and 30°C) on the time for the beginning of death in platy (*Xiphophorus maculatus*) juveniles, to allow high densities, optimizing the costs with transport costs by reducing the total weight of the loads.

Six hundred fish, measuring 0.61 ± 0.3 g and 3.2 ± 0.53 cm, in four repetitions of 5 fish per experimental unit (plastic bag) per temperature and concentration, in a total of 30 treatments were used. The results indicated that the time delay until death of the first fish in each experimental unit and the dissolved oxygen concentration were significantly affected by temperature (T), eugenol concentration (E) and the interaction of these factors (TxE). This study suggests that the time delay until death of the first fish and the dissolved oxygen concentration were interactively affected by water temperature and eugenol concentration. Eugenol, when diluted in water concentrations around 8 mg L^{-1} at 22°C and 9 mg L^{-1} at 24°C, allows greater survival time for the fish, but has no effect at higher temperatures.

Keywords: ornamental fish, clove oil, temperature, interaction, concentrations, high densities; transport.

1. INTRODUÇÃO

O Brasil é um país privilegiado no cenário da aquicultura, devido ao tamanho e à riqueza de suas bacias hidrográficas, às numerosas represas espalhadas por todo país e à sua produtiva região costeira, apresentando condições favoráveis ao desenvolvimento das mais diversas modalidades aquícolas, inclusive a ornamental.

A produção de peixes ornamentais é uma atividade relativamente nova no Brasil. Representa uma opção com baixo custo de implantação e elevada rentabilidade para agricultores familiares, o que a torna uma excelente oportunidade para melhoria das condições de vida dessa parcela da população tão significativa para o país, sendo fundamental ressaltar que para alcançar uma produção satisfatória são necessários muito empenho e dedicação, com freqüentes atualizações por parte dos criadores, já que cada grupo de espécies apresenta peculiaridades quanto ao manejo e reprodução.

Alguns procedimentos, como o manejo durante o transporte, podem causar estresse aos peixes, ocasionando perda de apetite e peso, redução do crescimento, aparecimento de doenças e até a morte dos animais. Desse modo, o adequado acondicionamento, embalagem e transporte dos peixes ornamentais são fundamentais no sucesso da comercialização destes.

O tratamento no pré-transporte e durante o manuseio para embalagem e transporte é decisivo para se reduzir os custos com a distribuição dos peixes ornamentais. É fundamental lançar mão de artifícios que diminuam o estresse e possibilitem aumentar a densidade de peixes, otimizando os custos com os serviços de transporte, tão freqüentes na piscicultura ornamental, pela redução no peso total das cargas.

Existe um consenso na literatura que diz que: a utilização de água de boa qualidade com temperatura adequada aliada ao uso de substâncias com ação sedativa ou anestésica auxilia na diminuição do estresse, à medida que reduz a atividade e o metabolismo dos peixes, minimizando injúrias físicas, excreção de metabólicos tóxicos e grande economia de oxigênio. Porém, o uso dessas substâncias deve ser baseado em critérios como a eficácia, o custo, a disponibilidade no mercado, a segurança durante o uso e os possíveis efeitos

colaterais aos peixes, aos seres humanos e ao meio ambiente. Seu uso deve ser moderado, pois algumas espécies mais sensíveis, podem não tolerar alguns anestésicos nas doses usualmente recomendadas. Estas doses variam conforme o agente utilizado, a via de administração, a espécie do peixe, a qualidade da água (temperatura, concentração de oxigênio e constituição iônica) e estão relacionadas à tolerância e concentração necessária para indução à anestesia e ao tempo de recuperação.

Apesar do anestésico aparentemente minimizar os impactos de agentes estressores, é importante a determinação de concentrações ótimas de fármacos com características anestésicas para se evitar os efeitos negativos da prática, pois a utilização de quantidades excessivas pode promover alterações metabólicas detectadas somente horas após a exposição, ou ainda a morte dos peixes.

Este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da temperatura da água e da concentração do eugenol no tempo de sobrevivência dos peixes juvenis da espécie plati (*Xiphophorus maculatus* Günther) em condição de alta densidade.

2. REVISÃO DE LITERATURA

O produtor rural precisa diversificar as atividades, agregar valores à produção da propriedade buscando analisar a lucratividade das alternativas, e uma alternativa de grande potencial é a aquicultura (OSTRENSKY, 2002).

A piscicultura ornamental é uma das atividades aquícolas menos conhecida, mas de grande potencial econômico e social (CHAPMAN *et al.*, 1997).

Segundo Ghosh, Mahapatra & Datta, (2003), cerca de 7,2 milhões de famílias nos EUA e 3,2 na União Européia têm um aquário em casa, e este número está aumentando a cada dia pelo mundo. A demanda gerada pela aquicultura ornamental está fazendo crescer a área cultivada para produção de insumos para as fábricas de ração. O fato é que os maiores mercados para os peixes ornamentais são EUA, Europa e Japão. Mais de 60% do comércio referente à aquicultura ornamental total do mundo, vai para a economia dos países em desenvolvimento. O crescimento anual do setor está na faixa de 14%.

A criação de peixes ornamentais pode ser uma alternativa promissora tanto para as pessoas da zona rural quanto para as da zona urbana. A atividade requer pouco espaço e menor investimento inicial do que muitas outras formas de aquicultura. Para começar a primeira fase da criação de peixes ornamentais, não é necessária muita tecnologia. Apenas uma compreensão básica dos hábitos, da biologia e das necessidades dos peixes, é suficiente para que possa ser praticada, inclusive em áreas urbanas. Os trabalhos não exigem grandes esforços físicos, podendo ser desempenhados por mulheres e idosos. Com mais um pouco de investimento e com alguns equipamentos como aquecedores, aeradores e filtros elétricos, podem-se realizar outras práticas tais como reprodução seletiva e manipulação de alimentos (CAMARGO & POUÉY, 2005).

A produção comercial de peixes ornamentais é uma atividade profissional altamente competitiva na maioria dos países que a pratica e, no Brasil, se encontra em plena ascensão ainda que raramente seja enfocada como fazendo parte da aquicultura (VIDAL JUNIOR, 2002).

A piscicultura ornamental brasileira é uma atividade relativamente recente, e tem como marco histórico a introdução de peixes ornamentais asiáticos em meados da década de 20 no Rio de Janeiro/RJ, por um imigrante de origem japonesa, Sigeiti Takase, que veio ao Brasil interessado em estudar a ictiofauna local. Takase trouxe mais de 50 espécies para cultivo e descobriu mais de uma centena de espécies da ictiofauna brasileira, algumas das quais ele passou a criar (CAMARGO & POUHEY, 2005).

Contudo, criar peixes ornamentais vem se tornando um hábito cada vez mais freqüente no Brasil. A grande quantidade de peixes nativos somadas ao clima adequado do Brasil e ao desenvolvimento do comércio especializado em equipamentos e acessórios modernos para aquários são fatores que impulsionaram o desenvolvimento da atividade (CARDOSO & IGARASHI, 2009).

O mercado de peixes ornamentais está em expansão ao redor do mundo, sobretudo nos países em desenvolvimento. No Brasil, esta expansão vem sendo acompanhada pelo aumento progressivo no tamanho e na complexidade dos aquários comercializados. Dos quase quatro mil produtores existentes no Brasil, a maioria faz dessa modalidade de criação a principal atividade econômica da propriedade (VIDAL JUNIOR, 2003, 2004).

Na aquicultura, alguns procedimentos rotineiros são fontes de estresse para os peixes, entre eles: biometria, transporte, reprodução induzida e coleta de ovos. Como conseqüências, podem ocorrer desde perda do apetite e peso, redução no crescimento, aparecimento de doenças até a morte dos animais (BARCELLOS, SOUZA, WOEHL, 2000).

Produtos químicos, como a triclaína metanossulfato (MS-222), o sulfato de quinaldina, a benzocaína e o fenoxietanol são comumente utilizados como anestésicos em peixes para tentar diminuir o estresse. No entanto, efeitos adversos podem ser observados, como perda de muco, irritação das brânquias e danos na córnea. A anestesia de peixes pode ser afetada por fatores biológicos, tais como as diferenças entre as espécies (formato do corpo, tamanho da área branquial) e intraespécies, que são as diferenças de tamanho, variações na taxa metabólica e quantidade de gordura corporal (ROUBACH e GOMES, 2001).

Segundo Ross & Ross, (2008), os estágios de anestesia descritos na literatura (Tabela 1) são classificados de acordo com os graus de perda de equilíbrio e alterações na frequência dos batimentos operculares. Dessa forma, a determinação do intervalo de tempo adequado para que os peixes atinjam determinados estágios de anestesia é de fundamental importância para o correto planejamento do manejo de peixes.

Tabela 1. Descrição dos estágios anestésicos e dos comportamentos, em peixes.

Estágio de anestesia	Descrição do Comportamento
1.Sedação leve	Perda de reação aos movimentos visuais e ao toque
2.Anestesia leve	Perda parcial do equilíbrio
3.Anestesia profunda	Perda total do equilíbrio
4.Anestesia cirúrgica I	Diminuição dos movimentos operculares
5.Anestesia cirúrgica II	Mínimo movimento opercular, o peixe fica estático
6.Colapso medular	Overdose (dose em excesso) ou tempo excessivo de anestesia
Recuperação	Recuperação do equilíbrio e natação normal

Modificado de Ross e Ross (2008).

2.1. A espécie

Os platis (*Xiphophorus maculatus*, Günther,1866) (Figura 1) pertencem à família dos poecilídeos, com expressiva significância para a piscicultura ornamental, têm origem na América Central, vivem em grupos, são caracterizados principalmente por serem ovovivíparos, ou seja, os ovos se desenvolvem no ventre da fêmea e seus filhotes, ao nascerem, já saem formados com características fenotípicas de adulto. Sua reprodução é muito fácil de ocorrer e o dimorfismo sexual da família é acentuado, em sua maioria, os machos adultos são menores que as fêmeas e possuem nadadeira anal modificada em gonopódio, que é introduzido no oviduto da fêmea para a fertilização (LIMA, 2003).

São muito comuns em aquários de iniciantes, por serem considerados peixes tolerantes a pequenas variações. As condições ideais da água para a manutenção do plati em cativeiro são: pH 7.4, temperatura 25°C e água ligeiramente salobra, 5g

de NaCl por litro de água. É onívoro, aceitando bem alimentos em flocos, dáfnias, algas, entre outros (LIMA, 2004).



Fonte: Janeth Coelho Pacheco

Figura 1: Exemplar de plati

2.2 O estresse

O estresse é um estado orgânico produzido por uma condição ambiental ou mesmo por uma condição orgânica que induz mudanças fisiológicas e bioquímicas para além dos níveis normais, sendo que a resposta do organismo está diretamente relacionada à intensidade e à duração do agente estressor (VAL *et al.*, 2004). Segundo (IWAMA, 1993), em qualquer produção intensiva o estresse é inevitável.

Dependendo da severidade do estressor, o mecanismo de resposta pode se tornar inativo e impactar negativamente a fisiologia do animal. O conhecimento das mudanças fisiológicas causadas por estresse é importante para elaboração de programas reprodutivos e de manejo em aquicultura (LIMA *et al.*, 2006).

O estresse pode causar um impacto negativo no cultivo de peixes, com efeitos que incluem a redução da imunidade, aumentando a susceptibilidade às doenças, redução na qualidade dos ovos, do esperma e redução no crescimento dos peixes (OBA, MARIANO & SANTOS, 2009).

Os peixes são facilmente estressados durante o manejo e o transporte. O simples contato dos animais com o ar atmosférico durante a biometria é suficiente para desencadear uma reação de estresse (BARCELLOS, SOUZA, WOEHL, 2000).

Dentre os vários agentes estressores em uma criação de peixes, podemos citar: o manejo, o confinamento, altas densidades e a captura (VIDAL *et al.*, 2008).

O estresse pode ser classificado como agudo ou crônico. O primeiro geralmente ocorre em manejos como biometrias e transportes que levam o peixe a um estresse rápido e passageiro. O segundo tipo leva a um baixo crescimento, menor ganho de peso e queda na imunidade e acontece em condições que mantenham os peixes permanentemente em condições fora dos níveis de conforto, como pH incorreto e baixo nível de oxigênio dissolvido na água (IWAMA, 1993).

A quantificação do estresse ao qual o peixe é submetido é fundamental para que se estabeleçam práticas de manejo adequadas (VIDAL *et al.*, 2008).

As respostas ao estresse são divididas em três categorias: primária, secundária e terciária. As respostas primárias são as hormonais e são caracterizadas por um significativo aumento dos hormônios corticosteróides (cortisol) e pela concentração de catecolaminas (adrenalina e noradrenalina). Essas substâncias estimulam a hidrólise das reservas de glicogênio no fígado, aumentando os níveis de glicose no sangue, causando a diminuição da proteína muscular, aumentando os batimentos cardíacos; marcando o início das respostas secundárias. As respostas secundárias são as respostas às mudanças nos parâmetros fisiológicos e bioquímicos e, as terciárias são o comprometimento no desempenho, mudanças no comportamento e aumento a susceptibilidade a doenças, que normalmente leva o peixe à morte (VIDAL *et al.*, 2008).

As respostas do estresse são manifestadas em seqüência, onde a resposta primária ativa a secundária que por sua vez ativa a terciária. Assim sendo, as práticas de manejo adotadas devem ser realizadas com cuidado, de forma a

minimizar o estresse e conseqüentemente diminuir as perdas e os riscos de mortalidade (VIDAL *et al.*, 2008).

2.3 O transporte de peixes vivos

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 do transporte podem estar relacionadas à comercialização de alevinos, as aquisições de peixes adultos, ao transporte de reprodutores e ao transporte de peixes destinados ao comércio de peixes vivos, como em feiras e mercados (GOMES *et al.*, 2003). É um manejo inevitável no processo produtivo, embora seja considerado um processo traumático que expõe os peixes a uma série de estímulos que desencadeiam respostas fisiológicas de adaptação (IVERSEN *et al.*, 1998; URBINATI & CARNEIRO, 2005).

O crescimento da indústria aquícola está provocando um aumento significativo de pessoas e empresas que se especializam no transporte de peixes vivos, sendo o uso de altas densidades, de fundamental importância na redução dos custos envolvidos. Esta atividade pode ser considerada como uma das etapas de maior importância na produção de peixes, pois quando mal planejada e executada, pode levar a grandes prejuízos face à mortalidade freqüentemente observada (OLIVEIRA & CYRINO, sd).

Existem dois sistemas básicos para o transporte de peixes vivos: o sistema fechado e o sistema aberto. O sistema fechado consiste no transporte dos peixes acondicionados em sacos plásticos, parcialmente preenchidos com água, onde é injetado oxigênio comercial puro. No sistema aberto, os peixes são acondicionados em caixas próprias para transporte, sendo a alimentação de oxigênio ou de ar constante (BERKA, 1986).

Segundo Gomes, Roubach & Araujo-Lima (2005), o tamanho do saco pode variar de acordo com a finalidade do transporte e o tamanho do peixe. Em fazendas de larvicultura são utilizados sacos de 30 ou 60 litros, onde em 20% do volume é adicionada água e no restante é injetado o oxigênio. Os sacos podem ser

transportados sem proteção ou colocados em caixas de papelão ou isopor, que oferecem proteção adicional aos choques mecânicos e as variações térmicas.

O procedimento básico empregado na atividade de transporte de peixes consiste na suspensão da alimentação pelo menos por vinte e quatro horas antes do transporte, pois durante esse período haverá um esvaziamento do trato digestivo dos animais, proporcionando uma diminuição na quantidade de dejetos na água de transporte, pois os dejetos e excretas dos peixes contribuem muito para a deterioração da qualidade da água e na diminuição dos níveis de oxigênio (CONTE, 2004).

Peixes em jejum consomem menos oxigênio, excretam menos amônia e gás carbônico na água, toleram melhor o manuseio e apresentam maior sobrevivência após o transporte. Com o trato digestivo vazio, os peixes também não sujam a água com suas fezes, reduzindo assim a carga bacteriana na água e o risco de infecções durante o transporte (KUBITZA, 1999b).

Substâncias anestésicas são freqüentemente utilizadas para reduzir a hipermotilidade, que é uma fonte considerável de ferimentos durante procedimentos de manejo e/ou transporte (INOUE *et al.*, 2003; INOUE *et al.*, 2005; VIDAL *et al.*, 2006).

Segundo Cooke *et al.* (2004), concentrações entre 5 e 9 mg.L⁻¹ de eugenol, para largemouth (*Micropterus salmoides*), uma espécie de robalo, mostraram-se eficazes para transporte e manipulação dos peixes. A sedação resultou em perda de reação e redução dos batimentos cardíacos, enquanto que o peixe mantinha o equilíbrio. Peixes anestesiados com estas concentrações apresentaram indução anestésica e recuperação do comportamento mais rápida, quando comparada com as concentrações acima de 9 mg.L⁻¹.

De acordo com Keene *et al.* (1998), a dose recomendada de eugenol está entre 40 a 60 mg.L⁻¹ para a anestesia de juvenis de truta (*Oncorhynchus mykiss*), em exposições de 3 a 6 minutos. Para o transporte (de 6 a 8 horas), os autores recomendam uma dose aproximada de 3 mg.L⁻¹.

O estágio 2 de anestesia, perda parcial do equilíbrio, é considerado como o ideal para o transporte dos peixes (COOKE *et al.*, 2004).

Segundo Grottum *et al.*, (1997), o principal fator de sucesso do transporte é conter a maior densidade de peixes no menor volume de água possível, sem que haja mortalidade, deterioração da qualidade da água (temperatura, concentração de oxigênio e constituição iônica) e estresse.

2.4 A temperatura

A exigência em temperatura depende da espécie de peixe e fase de desenvolvimento em que se encontra (ovo, larva pós-larva ou juvenil). As espécies tropicais normalmente apresentam ótimo crescimento a temperaturas de 28 a 30°C. Temperaturas mínimas e máximas da água devem ser conhecidas de modo a determinar a viabilidade do cultivo de uma espécie em particular (KUBITZA, 1999a).

A temperatura da água é um dos fatores mais importantes nos fenômenos químicos e biológicos existentes em um viveiro. Todas as atividades fisiológicas dos peixes (respiração, digestão, reprodução, alimentação, etc.) estão intimamente ligadas à temperatura da água. Os peixes ajustam sua temperatura corporal de acordo com a temperatura da água. Cada espécie tem uma temperatura na qual melhor se adapta e se desenvolve, sendo essa temperatura chamada de temperatura ótima. As temperaturas acima ou abaixo do ótimo influenciam de forma a reduzir seu crescimento. Em caso de temperaturas extremas, podem acontecer mortalidades. O metabolismo dos peixes é maior à medida que aumenta a temperatura (SILVA, FERREIRA & LOGATO, sd).

A temperatura tem um efeito pronunciado nos processos químicos. De uma maneira geral, a velocidade das reações químicas dobra ou triplica para cada 10°C de aumento na temperatura. A redução da temperatura na água de transporte reduz o metabolismo dos peixes e, conseqüentemente, reduz a taxa de consumo de oxigênio e de excreção de amônia e gás carbônico (KUBTIZA, 2003).

2.5 O pH da água

O pH é a medida da intensidade de sua reação ácida ou alcalina. É um parâmetro muito importante a ser considerado em aquicultura, já que possui um profundo efeito sobre todos os organismos aquáticos (TAVARES, 1994).

O pH pode ser a causa e consequência de muitos fenômenos químicos e biológicos. Por exemplo, ele exerce uma forte influência sobre a toxicidade de certos parâmetros químicos, tais como a amônia não ionizada, que se torna mais abundante em pH alcalino, e o ácido sulfídrico (H_2S), que aumenta percentualmente em pH ácido. Os pontos letais de acidez e alcalinidade são de pH 4 e pH 11, respectivamente. As águas com valores que compreendem a faixa de 6,5 a 9,0 são as mais adequadas para a produção da maioria dos peixes. Já valores inferiores a 6,5 diminuem os processos reprodutivos (VINATEA, 1997).

2.6 Oxigênio dissolvido

Os peixes possuem brânquias que são órgãos respiratórios presentes numa superfície lateral voltada para o lado externo (SCHIMIT & NIELSEN, 2002), e graças às brânquias, adquirem grande eficiência na absorção do oxigênio da água, que lhes confere uma grande superfície para a troca gasosa (PIIPER, 1982).

O oxigênio dissolvido na água é necessário para a sobrevivência dos peixes, em concentrações mínimas entre 10 e 60% de saturação, dependendo da espécie. No controle da solubilidade do oxigênio na água, a temperatura é o fator mais importante. A solubilidade do oxigênio na água diminui com o aumento da temperatura e com a redução da pressão atmosférica (as mais baixas pressões atmosféricas verificam-se a maiores altitudes); a solubilidade do oxigênio diminui ainda, mas de modo exponencial, com o aumento do conteúdo de sais na água (TAVARES, 1994).

Segundo Berka (1986), o fator mais importante no transporte de peixes é a quantidade de oxigênio dissolvido na água. Contudo, a abundância de oxigênio não necessariamente indica que o peixe esteja em boas condições, uma vez que a habilidade do peixe usar o oxigênio depende de seu estado de estresse, temperatura da água, pH e concentrações de metabólitos, principalmente a amônia.

2.7 Amônia

A amônia é o principal produto de excreção dos organismos aquáticos, resultante do catabolismo das proteínas (CAMPBELL, 1973). Uréia, aminoácidos, derivados óxido aminos, creatina, creatinina e ácido úrico são os outros compostos nitrogenados de excreção. A uréia é o único destes compostos que é excretado em quantidades significativas, porém não é tóxica e em contato com a água é rapidamente hidrolisada para produzir amônia e dióxido de carbono (COLT & TCHOBANOGLOUS, 1976, citado por VINATEA, 1997).

A amônia é um gás extremamente solúvel em água. Quando se encontra em solução, apresenta a seguinte reação de equilíbrio: $\text{NH}_3 + \text{H}_2\text{O} = \text{NH}_4^+ + \text{OH}^-$. Este equilíbrio é dependente de pH, temperatura e salinidade (BOWER & BIDWEL, 1978 citados por VINATEA, 1997). A forma não ionizada (NH_3) é a mais tóxica para os organismos aquáticos. As membranas branquiais dos peixes não são permeáveis ao NH_4^+ , mas são relativamente permeáveis ao NH_3 , e esta forma incrementa-se dez vezes para cada grau de pH que aumente na água (VINATEA, 1997).

Por convenção, diversos autores têm concordado em chamar o NH_4^+ de amônia ionizada e o NH_3 de amônia não ionizada. Por outro lado, a soma de $\text{NH}_3 + \text{NH}_4^+$ é chamada simplesmente de amônia ou amônia total. Valores de amônia não ionizada acima de $0,2 \text{ mg L}^{-1}$ já são suficientes para induzir uma toxidez crônica levando a uma diminuição do crescimento e da tolerância dos peixes às doenças. Níveis de amônia entre $0,7$ e $2,4 \text{ mg L}^{-1}$ podem ser letais para os peixes durante exposição por curto período (VINATEA, 1997).

2.8 O eugenol e seu uso como anestésico e sedativo na aquicultura

O óleo de cravo é uma substância fenólica, depressora do sistema nervoso central, obtida através da destilação das flores, caules e folhas do cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & Perry), que apresenta na composição de 70 a 95%, do seu princípio ativo o eugenol (MAZZAFERA, 2003).

Na década de 1930 reportou-se pela primeira vez a possibilidade de utilização de produtos contendo eugenol para anestesia de peixes (ENDO *et al.*, 1972 citado por HOSKONEN & PIRHONEN, 2004).

Os anestésicos são importantes na aqüicultura por reduzir o estresse durante o manejo e preservar a integridade dos peixes (ROUBACH *et al.*, 2005). O eugenol aplicado no manejo e transporte de trutas pode ser utilizado com sucesso para tilápia do Nilo, devendo ser pesquisado para outras espécies (HUERGO & SATO, 2002).

Os estudos sobre a utilização do eugenol como anestésico em aqüicultura surgiram da necessidade de se encontrar novas substâncias eficazes, seguras e de baixo custo, podendo ser utilizado na água de imersão dos peixes (ROUBACH *et al.*, 2005) e por aspersão da solução, direto nas brânquias (HONCZARYK & INOUE, 2009). O eugenol é seguro para os animais, para o manipulador e para o meio ambiente (IVERSEN, 2003).

As concentrações de eugenol necessárias para a indução anestésica e a tolerância às dosagens em decorrência do tempo variam conforme a espécie (KEENE *et al.*, 1998).

Segundo Vidal *et al.* (2007a), não há influência do peso corporal de juvenis de matrinxã e de tambaqui sobre o tempo de indução e de recuperação à ação anestésica do eugenol, no entanto, existe diferença entre as espécies.

Vartak e Singh (2006) afirmam ser necessárias outras pesquisas com dosagens de eugenol inferior a 15 mg.L^{-1} , sendo esta dosagem segura para o transporte de pós larvas de camarão por um período de até 6 horas.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Local

O trabalho foi conduzido no Laboratório de Limnologia e Piscicultura da Universidade Católica de Goiás, em Goiânia, Goiás.

3.2 Delineamento estatístico e tratamentos

O experimento foi conduzido em um delineamento inteiramente ao acaso, em ensaio fatorial completo (5x6), representando as 5 temperaturas da água (22, 24, 26, 28 e 30°C) e as 6 concentrações de eugenol (0, 3, 5, 7, 9 e 12 mg.L⁻¹), com 5 peixes por parcela (saco plástico contendo 100 ml de ar e 20 ml da solução experimental preparada conforme as 6 concentrações do sedativo (Tabela 2), equivalente a densidade de 250 peixes L⁻¹ de água), totalizando 30 tratamentos com 4 repetições. Devido à sua natureza oleosa, o Eugenol® (Biodinâmica), foi diluído em álcool etílico (97°), uma hora antes do acondicionamento dos peixes, na proporção 1:10, resultando numa solução estoque na proporção de aproximadamente 100 mg.L⁻¹.

Tabela 2 – Preparo das soluções experimentais de eugenol a partir da solução estoque, para 100 ml de água.

Concentração do eugenol	0 mg.L ⁻¹	3 mg.L ⁻¹	5 mg.L ⁻¹	7 mg.L ⁻¹	9 mg.L ⁻¹	12 mg.L ⁻¹
Solução estoque (ml)	0	0,003	0,005	0,007	0,009	0,012

3.3 Condução do experimento

Para a condução do experimento foram utilizados 600 indivíduos juvenis de plati com peso de 0,61 ± 0,3 g e comprimento total de 3,2 ± 0,53 cm. Para adaptação

prévia, os peixes foram mantidos em dois aquários de 60 litros durante três dias, com aeração constante. Foi fornecida ração extrusada (Pirá Alevino 1,7mm® GUABI) com 40% de proteína bruta, que fora triturada em moedor de carne, selecionando-se os grânulos retidos em malha de um milímetro,. Os peixes foram alimentados duas vezes ao dia, as 9 e 16 horas. Diariamente, foi realizada sifonagem para retirada de fezes e ração não consumida, sendo renovada 10% da água do aquário. No dia anterior ao experimento, foi suspensa a alimentação dos peixes na parte da tarde, perfazendo 24 horas de jejum para o início do experimento.

Para o início do experimento, foram preparadas cinco caixas plásticas com 60 litros de água, cada uma na temperatura de 22, 24, 26, 28 e 30°C (Figura 2) procedendo a sua manutenção com o uso de gelo e aquecedores com termostatos para correção e equilíbrio das temperaturas.



Fonte: Janeth Coelho Pacheco

Figura 2: Preparo das caixas com água nas diferentes temperaturas

Antes de colocar os peixes, foram coletadas amostras da água de cada caixa para determinação do oxigênio dissolvido, pH e amônia, utilizando os seguintes equipamentos: medidor de oxigênio eletrônico digital, medidor de pH eletrônico digital e Kit para análise de amônia na água Freshwater®(Figura 3).

Os peixes foram estocados em sacos plásticos com volume útil de 250 ml, marcados previamente com caneta à prova d'água para estipular o local da amarração e uniformizar o volume de ar dentro dos mesmos (100 ml), o número do saco plástico, a concentração de eugenol e a temperatura da água (Figura 3).



Fonte: Janeth Coelho Pacheco

Figura 3: Análise inicial da água e preparo das parcelas

3.4 Avaliações e procedimento estatístico

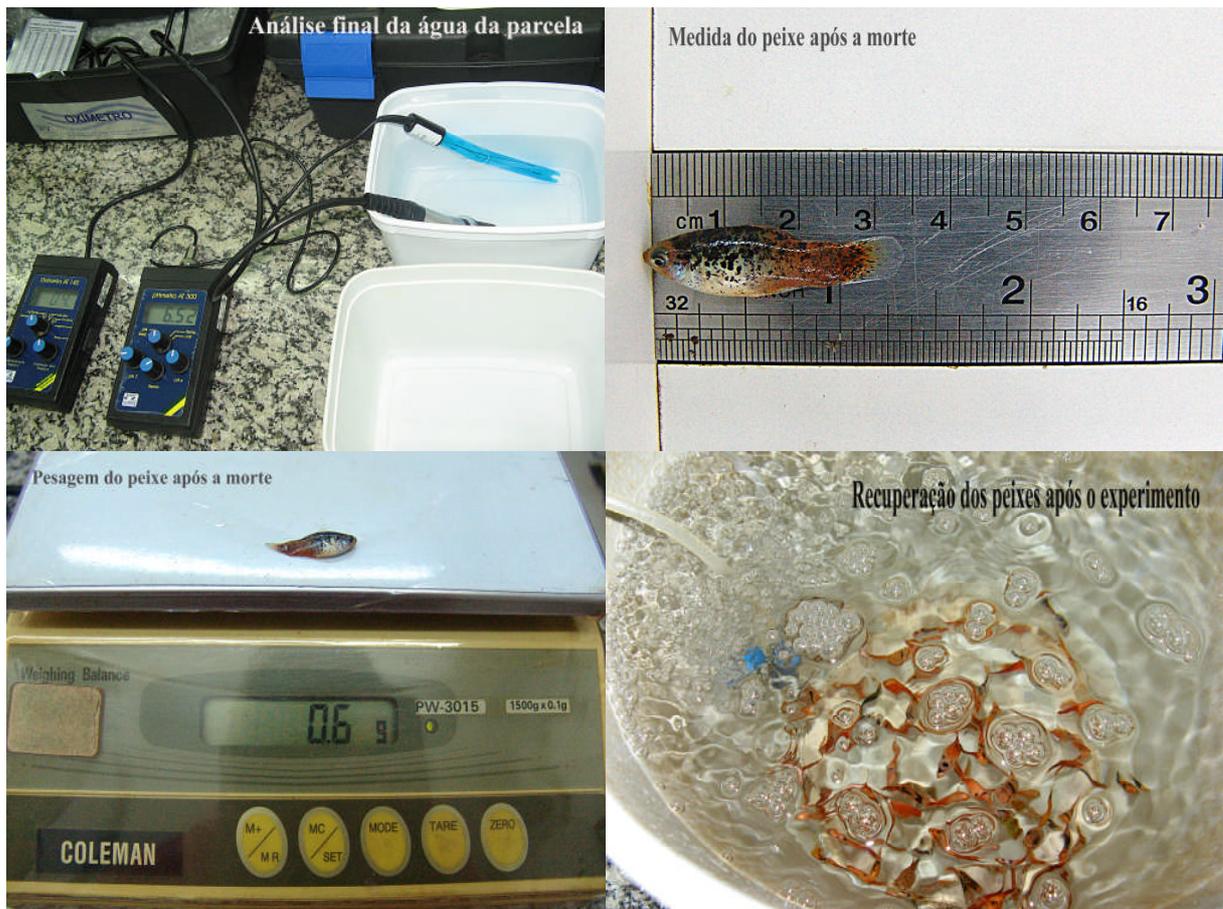
Cada parcela foi colocada em banho-maria na caixa correspondente à sua temperatura e observada a cada 5 minutos, com auxílio de uma lupa para verificação dos movimentos operculares e a morte do primeiro peixe (IM) (Figura 4).



Fonte: Janeth Coelho Pacheco

Figura 4: Disposição das parcelas nas caixas em banho-maria e observação dos movimentos operculares dos peixes em cada parcela com o auxílio da lupa.

A partir da morte do primeiro peixe, a parcela (saco plástico) era retirada da caixa plástica, anotando o tempo decorrido até a morte do primeiro peixe e procedendo à biometria do peixe morto e às análises da água quanto aos níveis de oxigênio dissolvido (mg.L^{-1}) e amônia, bem como os valores de pH. A seguir, os demais peixes do saco foram recolocados em aquário com água sem eugenol com aeração constante, para recuperação (Figura 5).



Fonte: Janeth Coelho Pacheco

Figura 5: Análise final da água, biometria do peixe morto e recuperação dos demais em água com aeração constante.

Os dados referentes ao tempo para a morte do primeiro peixe e ao oxigênio dissolvido foram tabulados e submetidos às análises de variância e regressão, com auxílio do programa Sanest (ZONTA & MACHADO, 1984) e Excel. Os dados de pH e amônia não apresentaram variação suficiente para a realização das análises estatísticas.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O resumo da análise de variância dos dados referentes ao tempo decorrido até a morte do primeiro peixe de cada parcela (IM) e a concentração de oxigênio dissolvido na água está apresentado na Tabela 3, onde se observa um efeito significativo da temperatura (T), da concentração de eugenol (E) e da interação T x E sobre o tempo decorrido para a morte do primeiro peixe (IM) e a concentração de oxigênio dissolvido na água.

As análises iniciais da água encontraram um pH de 6,6 e ausência de amônia dissolvida. Nas análises finais, os valores de pH variaram entre 6,6 a 7,1, sendo os valores desta faixa considerados adequados à sobrevivência dos peixes. Contudo, nos testes para amônia dissolvida encontrou-se valores entre 2,5 e 4, sendo esta faixa inadequada à sobrevivência dos peixes. Os valores encontrados estão citados no Apêndice 1.

Tabela 3. Resumo das análises de variância para o tempo decorrido até a morte do primeiro peixe da parcela e a concentração de oxigênio dissolvido na água.

Causa de variação	Grau de liberdade	Quadrado médio do resíduo e níveis de significância	
		Tempo até 1ª morte	Oxigênio dissolvido
Temperatura (T)	4	151968,13**	0,55**
Concentração de eugenol (E)	5	29194,24**	0,55**
Interação T x E	20	9206,05**	0,22**
Resíduo	90	2618,25	0,10
Total	119	-	-
Coefficiente de variação (%)	-	33,5	7,6

** são valores significativos pelo teste F ao nível de 1% de probabilidade.

Como normalmente o transporte é feito sem se separar os sexos, no experimento adotou-se o mesmo procedimento. Durante a condução do experimento observou-se que a maioria das fêmeas morria primeiro, provavelmente por estarem prenhas e terem seus metabolismos aumentados. Este fato deve ter contribuído para o elevado coeficiente de variação, observado para o tempo até a primeira morte (33,5%). Assim, sugere-se a condução de novos experimentos, no delineamento de blocos ao acaso, procedendo a blocagem por sexo.

Devido ao efeito altamente significativo da interação (TxE) procedeu-se ao desdobramento dos graus de liberdade dos tratamentos para determinar os efeitos de cada concentração de eugenol sobre o tempo decorrido até a morte do primeiro peixe da parcela, dentro de cada temperatura testada (Tabela 4).

Tabela 4. Resumo das análises de variâncias para os efeitos das concentrações de eugenol sobre o tempo decorrido até a morte do primeiro peixe da parcela, em cada temperatura.

Efeito	Grau de liberdade	Quadrados médios do resíduo e níveis de significância em cada temperatura				
		22°C	24°C	26°C	28°C	30°C
Linear	1	16324,459*	2807,098**	704,024 ^{ns}	14,087 ^{ns}	2275,068 ^{ns}
Quadrática	1	141812,554**	24755,531**	917,759 ^{ns}	10841,002 ^{ns}	326,572 ^{ns}
Cúbica	1	30944,035**	30348,125**	294,858 ^{ns}	171,591 ^{ns}	600,775 ^{ns}
4º Grau	1	8244,696 ^{ns}	24841,469**	562,325 ^{ns}	1,748 ^{ns}	672,511 ^{ns}
5º Grau	1	2335,256 ^{ns}	718,777 ^{ns}	2142,868 ^{ns}	1281,072 ^{ns}	890,907 ^{ns}
Resíduo	90	2618,250	2618,250	2618,250	2618,250	2618,250
Efeito linear:	$Y_{22°C} = 240,79 + 6,66x, R^2 = 0,08$		$Y_{24°C} = 125,1 + 8,73x, R^2 = 0,26$			
Efeito quadrático:	$Y_{22°C} = 134,7 + 68,26x - 5,13x^2, R^2 = 0,79;$		$Y_{24°C} = 80,77 + 34,47x - 2,15x^2, R^2 = 0,49$			
Efeito cúbico:	$Y_{22°C} = 163,56 + 6,15x + 9,19x^2 - 0,8x^3, R^2 = 0,95;$		$Y_{24°C} = 109,35 - 27,04x + 12,04x^2 - 0,79x^3, R^2 = 0,76$			

Os resultados encontrados neste experimento estão de acordo com os trabalhos (Tabela 5), que confirmam que as concentrações de eugenol necessárias para a indução anestésica variam conforme a espécie e a temperatura.

Tabela 5. Doses efetivas de eugenol, usadas nas diversas espécies de peixe, sob diferentes temperaturas.

Espécie	Dose (mg.L ⁻¹)	Temperatura (°C)	REFERÊNCIA
Tambaqui	65	27	Roubach <i>et al.</i> (2005)
Pintado	50	24±0,1	Vidal <i>et al.</i> (2006)
Tamb./Matrinxã	50	28	Vidal <i>et al.</i> (2007a)
Piau	37,5	25±1	Vidal <i>et al.</i> (2007b)
Tilápia do Nilo	75	25±1	Vidal <i>et al.</i> (2008)
Pacu	50	26	Gonçalves <i>et al.</i> (2008)

Como pode ser verificado na Tabela 4, o efeito das concentrações de eugenol sobre o tempo decorrido até a morte do primeiro peixe (IM) foi significativo apenas nas temperaturas mais baixas (22 e 24°C), sendo significativos os modelos linear, quadrático e cúbico, porém, este último explica melhor as variações de IM em

função das concentrações de eugenol, por meio das seguintes equações expressas na Figura 6.

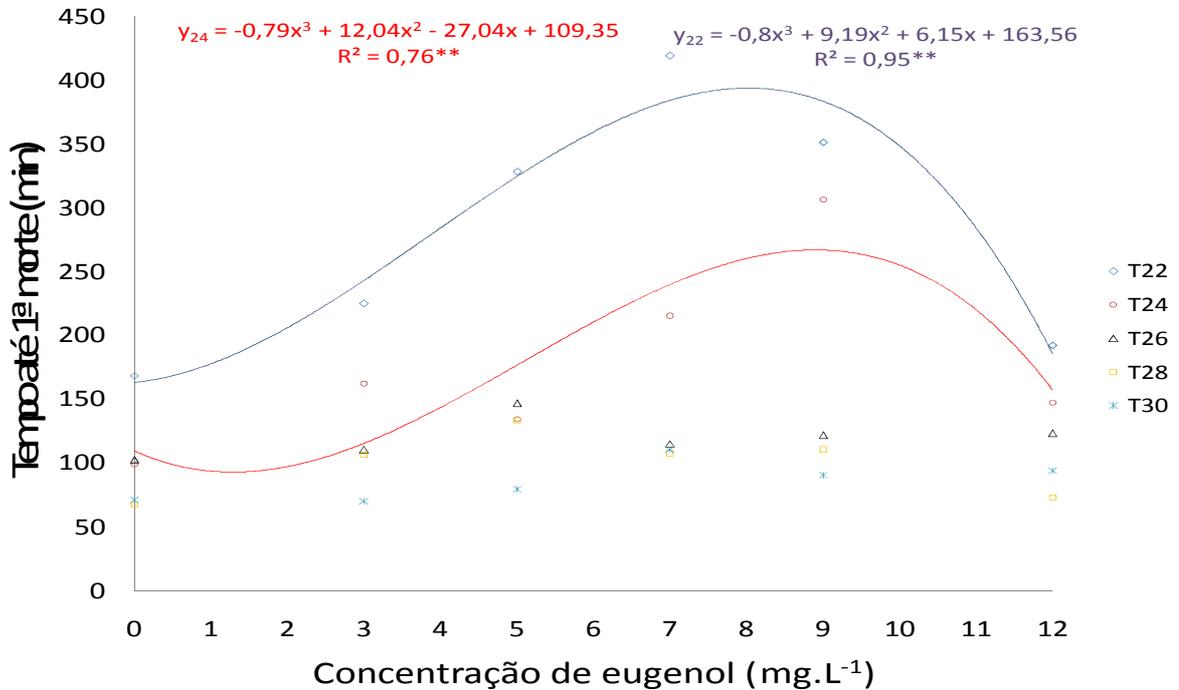


Figura 6. Curva do tempo decorrido até a morte do primeiro peixe da parcela (IM) em função da temperatura da água (T) e da concentração de eugenol (E).

Observa-se na Figura 2 que quanto menor a temperatura maior o tempo de vida dos peixes, obtendo-se a maior sobrevivência dos mesmos na menor temperatura (22°C). Por sua vez, o eugenol prolongou o tempo de vida dos peixes, alcançando melhores resultados em concentrações em torno de 8 mg.L⁻¹ de água a 22°C e 9 mg.L⁻¹ de água a 24°C. No entanto, nas maiores temperaturas (26, 28 e 30°C) o eugenol não teve efeito significativo no tempo de sobrevivência dos peixes.

Devido ao efeito altamente significativo da interação TxE (Tabela 4), procedeu-se ao seu desdobramento dos graus de liberdade para determinar os efeitos de cada concentração de eugenol sobre a concentração de oxigênio dissolvido na água de cada parcela (saco plástico), dentro de cada temperatura testada (Tabela 6)

Tabela 6. Resumo das análises de variâncias para os efeitos das concentrações de eugenol sobre a concentração de oxigênio dissolvido na água de cada parcela, em cada temperatura.

Efeito	Grau de liberdade	Quadrados médios do resíduo e níveis de significância em cada temperatura				
		22°C	24°C	26°C	28°C	30°C
Linear	1	0,0792 ^{ns}	0,3170 ^{ns}	0,1917 ^{ns}	0,1783 ^{ns}	0,0372 ^{ns}
Quadrática	1	2,2512 ^{**}	0,1070 ^{ns}	0,1237 ^{ns}	0,2074 ^{ns}	0,0356 ^{ns}
Cúbica	1	1,2125 ^{**}	0,6866 ^{**}	0,1762 ^{ns}	0,2183 ^{ns}	0,000001 ^{ns}
4º Grau	1	0,0521 ^{ns}	0,0155 ^{ns}	0,1463 ^{ns}	0,00007 ^{ns}	0,0003 ^{ns}
5º Grau	1	0,1020 ^{ns}	0,3790 ^{ns}	0,1321 ^{ns}	0,0560 ^{ns}	0,0153 ^{ns}
Resíduo	90	0,1032	0,1032	0,1032	0,1032	0,1032
Efeito linear:	$Y_{22^{\circ}\text{C}} = 4,12 - 0,01x$, $R^2 = 0,02$			$Y_{24^{\circ}\text{C}} = 4,38 - 0,03x$, $R^2 = 0,21$		
Efeito quadrático:	$Y_{22^{\circ}\text{C}} = 4,54 - 0,26x + 0,02x^2$, $R^2 = 0,63$;			$Y_{24^{\circ}\text{C}} = 4,47 - 0,08x + 0,0045x^2$, $R^2 = 0,28$		
Efeito cúbico:	$Y_{22^{\circ}\text{C}} = 4,36 + 0,13x - 0,07x^2 + 0,005x^3$, $R^2 = 0,96$;			$Y_{24^{\circ}\text{C}} = 4,33 + 0,21x - 0,063x^2 + 0,0037x^3$, $R^2 = 0,74$		

Como pode ser verificado na Tabela 6, o efeito das concentrações de eugenol sobre a concentração de oxigênio dissolvido na água foi significativo apenas nas temperaturas mais baixas (22 e 24°C), sendo significativo o modelo quadrático para a temperatura de 22°C e cúbico para ambas as temperaturas, porém, este último explica melhor as variações ocorridas na concentração de oxigênio dissolvido na água em função das concentrações de eugenol, por meio das seguintes equações expressas na Figura 7.

Observa-se na Figura 7, que nas temperaturas menores (22 e 24°C) o eugenol (em torno de 8 e 9 mg.L⁻¹, respectivamente) propiciou menores concentrações de oxigênio dissolvido na água, provavelmente por ter proporcionado maior tempo de sobrevivência dos peixes nessas temperaturas e, conseqüentemente maior consumo de oxigênio através da respiração.

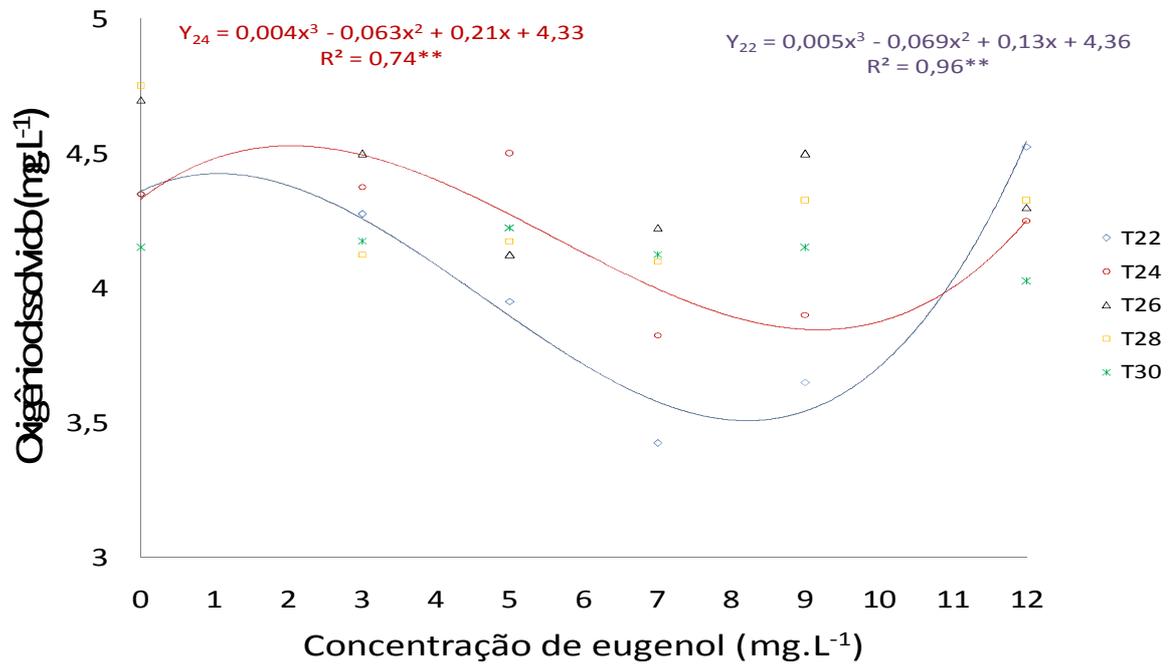


Figura 7. Curva da concentração de oxigênio dissolvido na água da parcela em função da temperatura da água e da concentração de eugenol.

5. CONCLUSÕES

Nas condições do presente trabalho pode-se tirar as seguintes conclusões:

O tempo decorrido até a morte do primeiro peixe e a concentração de oxigênio dissolvido na água são influenciados, de modo interativo, pela temperatura da água e a concentração de eugenol.

O eugenol propicia maior tempo de sobrevivência dos peixes quando diluído na água nas concentrações em torno de 8 mg.L^{-1} a 22°C e 9 mg.L^{-1} a 24°C , mas não tem efeito em temperaturas maiores.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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

BERKA, R. The transport of live fish. A review. EIFAC Technical Paper, n. 48, p. 52, 1986.

CAMARGO, S. G. O. de; POUHEY, J. L. O. F. Aquicultura - Um mercado em expansão. R. Bras. Agrociência, v. 11, n. 4, p. 393-396, 2005.

CAMPBELL, J. Nitrogen excretion. In. C. L. Prosser, Ed. Comparative Animal Physiology. W. B. Saunders, Philadelphia, p. 279-316, 1973.

CARDOSO, R. C.; IGARASHI, M. A. Potencial econômico da exploração de peixes ornamentais: Produção no Brasil e no mundo. PUBVET, v. 3, n. 1, Art. 479, 2009.

CHAPMAN, F. A.; FITZ-COY, S. A.; THUNBERG, E. M.; ADAMS, C. A. United States of America trade in ornamental fish. Journal of the World Aquaculture Society. v. 28, n.1, 1997.

CONTE, F. S. Stress and welfare of cultured fish. Applied Animal Behaviour Science, v. 86, p. 205-223, 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, n.239, p. 509-529, 2004.

GHOSH, A.; MAHAPATRA, B. K.; DATTA, N. C. Ornamental fish farming. Successful small scale aqua business in India. Aquacultura Asia, volume 8, nº 3, 2003.

GOMES, L. C.; ARAUJO-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 (*Piaractus mesopotamicus*). Acta Sci. Anim. v. 30, n. 3, p. 339-344, 2008.

GOMES, L. C.; ROUBACH, R.; ARAUJO-LIMA; C. A. R. M. O sal de cozinha no transporte de peixes. *Panorama da Aqüicultura*, n. 72, 2005.

GROTTUM, J. A.; STAURNES, M.; SIGHOLT, T. Effect of oxygenation and pH control on water quality and survival of turbot (*Scophthalmus maximus* L.), kept at high densities during transport. *Aquaculture Research*, v. 28, p.159-164, 1997.

HONCZARYK, A.; INOUE, L. A. K. A. Anestesia do pirarucu por aspersão direta nas brânquias do eugenol em solução aquosa. *Ciência Rural*, v.39, nº2, 2009.

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

HUERGO, G.M. & SATO, G. A utilização do óleo de cravo como anestésico para tilápia do nilo (*Oreochromis niloticus*). *Anais XII Simpósio Brasileiro de Aqüicultura*, 24 a 29 de junho, Goiânia / GO. 403p: 269, 2002.

INOUE, L. A. K. A.; SANTOS NETO, C; MORAES, G. Clove oil as anaesthetic for juveniles of matrinxã (*Brycon cephalus* Günther, 1869). *Ciência Rural*, v.33, n.5, p.943– 947, 2003.

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

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

IVERSEN, M. A.; FINSTAD, B.; MACKINLEY, R. S.; ELIASSEN, R. A. The efficacy of metomidate, clove oil, Aqui-Sk and BenzoakR as anaesthetics in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) smolts, and their potential stress-reducing capacity. *Aquaculture*, n. 221, p.549-566, 2003.

IWANA, G. K. Intensive fish production. Course Manual UBC Access guided Independent. Study. The University of British. Vancouver, Canada, 1993.

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

KUBTIZA, F. *Qualidade da Água na Produção de Peixes*, 3ª ed., p.10, 1999a.

KUBTIZA, F. *Técnicas de transporte de peixes vivos*, 3ª ed., 51 p., 1999b.

KUBTIZA, F. Amenizando as perdas de alevinos após o manejo e o transporte. *Panorama da Aqüicultura*, n.80, 2003.

LIMA, A. O. Peixes Ornamentais, potencial de mercado para algumas espécies de peixes ornamentais. *Panorama da Aqüicultura*, n.78, 2003.

LIMA, A. O. Peixes Ornamentais, Aqüicultura Ornamental. *Panorama da Aqüicultura*, n.83, 2004.

LIMA, L. C.; RIBEIRO, L. P.; LEITE, L. C.; MELO, D. C. Estresse em peixes. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v.30, nº3/4, 2006.

MAZZAFERA, P. Efeito alelopático do extrato alcoólico do cravo-da-índia e eugenol. *Revista Brasileira de Botânica*, v. 26, nº2, 2003.

OBA, E. T.; MARIANO, W. dos S.; SANTOS, R. L. B. dos. Estresse em peixes cultivados: agravantes e atenuantes para um manejo rentável. *Manejo e sanidade de peixes em cultivo*. Capítulo 8. Embrapa Amapá, 2009.

OLIVEIRA, A. M. B. de M. S.; CYRINO, J. E. P. Estresse dos peixes em piscicultura intensiva, sd.

OSTRENSKY, A.. O Milagre da multiplicação dos peixes. *Panorama da Aquicultura*, n. 72, p.53-56, 2002.

PIIPER, J.; A model for evaluating diffusion limitation in gas-exchange organs of vertebrates. In: *A Companion to Animal Physiology*. Ed.C.R. Taylor, p.49-64, 1982.

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

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

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

SCHIMIDT- NIELSEN, K. Fisiologia animal: adaptação e meio ambiente. Ed. Santos, 5ª ed., 600p, 2002.

SILVA, V. K.; FERREIRA, M. W.; LOGATO, P. V. Qualidade da água na Piscicultura. Disponível em <http://www.editora.ufla.br/BolExtensao/pdfBE/bol_94.pdf>. Acesso em 03 de setembro de 2009.

TAVARES, L. H. S. pH. In: *Limnologia aplicada à aquicultura*. Jaboticabal, FUNEP, 70p.1994.

URBINATI, E. C.; CARNEIRO, P. C. F. Práticas de manejo e estresse dos peixes em piscicultura. In: CYRINO, J. E. P, *Tópicos especiais em piscicultura de água doce*

tropical intensiva. Ed. Jaboticabal: Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia Aquática, p. 171-194, 2005.

VAL, A. L.; SILVA, M. N. P.; VAL, V. M. F. A. Estresse em peixes- Ajustes fisiológicos e distúrbios orgânicos. In: RANZANI-PAIVA, M. J. T.; TAKEMOTO, R. M.; LIZAMA, M. A. P. (Ed.). Sanidade de organismos aquáticos. Livraria Varela. São Paulo, cap. 3, p. 75-88, 2004.

VARTAK, V.; SINGH, R. K. Anesthetic effects of clove oil during handling and transportation of the freshwater prawn, (*Macrobrachium rosenbergii*). The Israeli Journal of Aquaculture – 58(1), p.46-54, 2006.

VIDAL JUNIOR, M. V. Peixes Ornamentais, As boas perspectivas para a piscicultura ornamental. Panorama da Aqüicultura, n.72, 2002.

VIDAL JUNIOR, M. V. Peixes Ornamentais, Acará disco o rei dos aquários. Panorama da Aqüicultura, n.80, 2003.

VIDAL JUNIOR, M. V. Peixes Ornamentais, Reprodução em Aquicultura. Panorama da Aquicultura, n.79, 2004.

VIDAL, L. V. O; ALBINATI, R. C. B.; ALBINATI, A. C. L.; MECÊDO, G. R. Utilização do eugenol como anestésico para o manejo de juvenis de pintado (*Pseudoplatystoma corruscans*). Acta Science Biol. Sci.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. Rev. Bras. Saúde Prod. 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 Science Biology.v. 29, nº4, p. 357-362, 2007b.

VIDAL, L. V. O; ALBINATI, R. C. B.; ALBINATI, A. C. L.; LIRA, A. D. de; ALMEIDA, T. R. de; SANTOS, G. B. Eugenol como anestésico para a tilápia-do-nilo. Pesq. Agropec. Bras., v.43, n.8, p.1069-1074, 2008.

VINATEA ARANA, L. Amônia. In: Princípios químicos de qualidade da água em aquicultura: uma revisão para peixes e camarões. Ed. da UFSC, 1997.

ZONTA, E. P., MACHADO, A. A. Sanest. Sistema de Análise Estatística, 1984.