

Glicose plasmática em juvenis de tilápia do Nilo anestesiados com óleo de cravo

Blood glucose from Nile tilapia juveniles anesthetized with clove oil

MOREIRA, Antonio Glaydson Lima^{1*}; TEIXEIRA, Erivânia Gomes¹; MOREIRA, Ricardo Lafaiete¹; FARIAS, Wladimir Ronald Lobo²

¹Universidade Federal do Ceará, Departamento de Engenharia de Pesca, Programa de Pós Graduação em Engenharia de Pesca, Ceará, Brasil.

²Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Engenharia de Pesca, Ceará, Brasil.

*Endereço para correspondência email: glaydson_ufc@hotmail.com

RESUMO

Objetivou-se avaliar a eficácia do óleo de cravo na anestesia de juvenis de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) mediante determinação da concentração ideal para realização de procedimentos rápidos com curta exposição ao anestésico, bem como monitorar a concentração de glicose sanguínea durante o período de anestesia. Foram utilizadas, durante 10 minutos de exposição, as concentrações de 30; 60; 120; 180; 240; 300; 350 e 400mg/L de óleo de cravo, das quais as duas últimas para determinar a concentração letal para os peixes. Amostras de sangue foram coletadas para avaliar a concentração de glicose antes, durante e depois do processo de anestesia. A concentração de 30mg/L de óleo de cravo foi considerada ideal para indução da anestesia profunda durante procedimentos rápidos como biometrias. A exposição ao óleo de cravo na concentração de 400mg/L, por 10 minutos, foi letal para juvenis de tilápia do Nilo. A concentração de glicose sanguínea dos juvenis de tilápia antes da anestesia foi de $60,0 \pm 3,40$ mg/dL, este o menor valor registrado no experimento. Indivíduos amostrados imediatamente após a anestesia profunda (IAP), imediatamente após a recuperação (IAR), 30 e 60 minutos após a recuperação (30 AR) apresentaram concentração de $85,8 \pm 7,04$, $90,8 \pm 9,37$, $124,2 \pm 18,62$ e $110,2 \pm 12,08$ mg/dL de glicose, respectivamente.

Palavras-chave: estresse, fisiologia, óleo de cravo.

SUMMARY

The aim with this study was to evaluate the efficacy of clove oil on juvenile's Nile tilapia anesthesia and to determine the optimal concentration for short exposure and achieving rapid procedures, and also to monitor the blood glucose concentration during fish exposure to the anesthetic. The concentrations of 30; 60; 120; 180; 240; 300; 350 and 400mg/L of clove oil were tested during a ten minutes exposure and the last two ones were used to determine the lethal concentration. Blood samples were used to evaluate glucose levels variations before, during and after anesthesia. The concentration of 30mg/L was considered the ideal to clove oil to induce deep anesthesia during rapid procedures as biometrics. The exposure to a concentration of 400mg/L of clove oil for ten minutes was lethal to the juveniles of Nile tilapia. The blood glucose concentration of the fishes before anesthesia was about $60,0 \pm 3,40$ mg/dL which was the lesser value registered on the experiment. The blood glucose concentrations of the individuals sampled immediately after deep anesthesia (IAD), immediately after recovery (IAR) and 30 and 60 minutes after recovery (30 and 60 AR) were about $85,8 \pm 7,04$, $90,8 \pm 9,37$, $124,2 \pm 18,62$ e $110,2 \pm 12,08$ mg/dL, respectively.

Keywords: physiology, stress, tilapia, clove oil.

INTRODUÇÃO

No cultivo de peixes em sistemas intensivos de produção, os animais passam por diversas situações estressantes. Além das altas densidades de estocagem utilizadas durante a criação, alguns procedimentos rotineiros como a biometria, transporte e reprodução induzida são fontes de estresse para os peixes.

No intuito de minimizar o estresse causado por essas práticas, estudos têm sido realizados nos últimos anos e, uma das linhas de pesquisas, o uso de anestésicos na piscicultura como uma ferramenta importante para diminuir a interferência desses agentes estressantes.

A eficácia das substâncias anestésicas varia entre as espécies, dentro da mesma espécie e por fatores bióticos e abióticos. Assim, peixes da mesma espécie com tamanho, idade e sexo diferentes podem responder de diferente forma a determinada concentração do anestésico. Essas respostas também podem variar com o pH, salinidade, temperatura e nível de oxigênio dissolvido na água (ZAHLE et al., 2009). Ao se utilizar a mesma concentração com diferentes anestésicos, os peixes atingem o estágio de anestesia desejado em tempos variados, o que justifica a necessidade da determinação de concentrações adequadas para a espécie de interesse de acordo com o procedimento a ser realizado, bem como o anestésico utilizado. Portanto, a administração indiscriminada de elevadas concentrações dos anestésicos pode promover uma reação indesejável e levar os peixes a um estresse agudo, ou até mesmo à morte (FENG et al., 2011).

Vários estudos já foram realizados com diversas substâncias anestésicas e

demonstraram a eficácia, os efeitos fisiológicos (COOKE et al., 2004; COTTER & RODNICK, 2006) e o processo de recuperação dos peixes (MOREIRA et al., 2010). O óleo de cravo tem sido amplamente testado com sucesso como anestésico para diversas espécies de peixes de água doce (ROUBACH et al., 2005; OKAMOTO et al., 2008) e marinhos (IVERSEN et al., 2003).

Assim, com este trabalho, objetivou-se determinar a eficácia do óleo de cravo como anestésico para juvenis de tilápia do Nilo. Para isso, foram avaliadas várias concentrações com o intuito de determinar a ideal para realização de manejos rápidos como uma biometria, além de definir a concentração letal para uma exposição de 10 minutos e, finalmente, averiguar a concentração de glicose sanguínea dos peixes durante e após a exposição ao anestésico.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no período de 17 a 20 de novembro de 2009. Juvenis de tilápia do Nilo com peso médio de $24,4 \pm 6,2$ g e comprimento médio de $10,9 \pm 0,9$ cm, foram adquiridos junto à Estação de Piscicultura do Departamento de Engenharia de Pesca (UFC). Os animais foram aclimatados em aquários com volume útil de 60L, contendo 45L água, sob sistema estático e alimentados três vezes ao dia até a saciedade. Todo o procedimento foi conduzido em três experimentos, o primeiro consistiu na determinação da concentração ideal para procedimentos rápidos de manejo, o segundo na definição da concentração letal e o terceiro na averiguação da concentração de glicose dos peixes, durante e após a exposição anestésica.

A alimentação foi cessada 24 horas antes de cada experimento. Devido sua natureza hidrofóbica, o eugenol (4-alil-2-metoxifenol) foi diluído em etanol absoluto o que resultou em uma solução estoque na concentração de 1000mg/mL. Os tempos de indução para alcançar os diferentes estágios de anestesia (Tabela 1) e recuperação foram

determinados mediante utilização das concentrações de 30, 60, 120, 180, 240 e 300mg/L de óleo de cravo na água. Os peixes (n = 12 para cada concentração) foram expostos, individualmente, durante 10 minutos, às diferentes concentrações do anestésico em aquários com capacidade para 5L e volume útil de 3L.

Tabela 1. Estágios de anestesia em peixes*

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

*Modificado de Ross & Ross (2008).

Considerou-se como concentração adequada aquela que induzisse os peixes ao estágio de anestesia profunda em tempo igual ou inferior a três minutos, conforme critério sugerido por Park et al. (2009). Após a indução anestésica, os peixes foram removidos e

colocados individualmente em outros aquários, providos de aeração constante com dimensões idênticas aos aquários utilizados para a indução anestésica. Os peixes foram considerados recuperados ao retorno de seu equilíbrio normal e com sua natação ativa. Após o

experimento, todos os indivíduos foram monitorados por 24 horas para se observar a taxa de sobrevivência.

Para a determinação da concentração letal do anestésico, os indivíduos ($n = 12$ para cada concentração) foram expostos, por dez minutos, às concentrações de 350 e 400mg/L e observado se o estágio de colapso medular (morte) foi atingido. A morte dos indivíduos foi constatada a partir da ausência do batimento opercular e, caso a parada opercular ocorresse antes dos dez minutos, os peixes continuavam expostos à solução anestésica até se completar o tempo estipulado pelo teste. Para se averiguar a mudança fisiológica das tilápias quando expostas à concentração mais adequada de óleo de cravo, foi mensurada a variação da concentração de glicose sanguínea das mesmas durante o banho anestésico. A coleta de amostras de sangue foi realizada por meio de punção caudal com a utilização de seringas de 3mL e agulha 25x0,7, previamente esterilizadas. O teor de glicose no sangue foi determinado mediante uso de um glicosímetro portátil e utilizado como indicador do nível de estresse antes, durante e depois da exposição dos peixes ao anestésico.

Foram utilizados 25 espécimes com médias de peso e comprimento de $24,4 \pm 6,2$ g e $10,9 \pm 0,9$ cm, respectivamente, e delineados quatro tratamentos com cinco repetições cada, de acordo com os seguintes momentos de coleta: imediatamente após a indução anestésica (anestesia profunda), imediatamente após a recuperação, 30 minutos após a recuperação e 60 minutos após a recuperação. A determinação dos níveis basais de glicose sanguínea foi realizada a partir de um grupo controle de cinco indivíduos que não foram expostos ao agente anestésico.

Os tempos para atingir os diferentes estágios de anestesia e a recuperação, bem como as concentrações de glicose sanguínea antes, durante e depois da indução anestésica para as diferentes concentrações de eugenol foram submetidos a uma análise de variância (ANOVA – fator único) e, quando verificadas diferenças significativas entre as médias ($F < 0,05$) foi aplicado o teste de Tukey a 5% de probabilidade para a comparação das médias. Todas as análises estatísticas foram realizadas mediante uso do pacote estatístico BIOESTAT 5.0.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na série para a determinação da concentração ideal de óleo de cravo para procedimentos rápidos, não foi observada nenhuma mortalidade ou efeito adverso durante todo o experimento e 24 horas após o mesmo. Inoue et al. (2003), ao utilizarem óleo de cravo como anestésico para juvenis de matrinxã, também não registraram mortalidade em período de observação semelhante.

Conforme sumarizado na Tabela 2, os juvenis anestesiados com o óleo de cravo passaram sequencialmente por todos os estágios de anestesia descritos por Ross & Ross (2008), ou seja, sedação leve, sedação profunda, narcose, anestesia profunda e anestesia cirúrgica, com diminuição significativa do tempo para atingir os diferentes estágios à medida que foi promovido o aumento da concentração. Esta progressiva sequência de estágios foi observada por Hajek et al. (2006) ao anestesiarem carpa comum, *Cyprinus carpio* L., com o óleo de cravo em diferentes concentrações e por Mylonas et al. (2005), ao utilizarem óleo de

cravo e 2-fenoxietanol como anestésicos para *Dicentrarchus labrax* e *Sparus aurata*.

Nas concentrações de 120; 180; 240 e 300mg/L do óleo de cravo, os juvenis demonstraram inicialmente uma hiperatividade imediatamente após serem imersos na água com a solução anestésica, enquanto os espécimes expostos às menores concentrações apresentaram-se mais acomodados. Essa atividade anormal dos animais foi facilmente caracterizada pela rápida natação no aquário e foi observado um comportamento de tosse, que diminuiu à medida que o efeito do anestésico se instalava.

Esse comportamento foi devido ao próprio anestésico, pois segundo Mylonas et al. (2005) ao estudarem o comportamento de exemplares de

dourada (*Sparus aurata*) e robalo europeu (*Dicentrarchus labrax*) expostos ao óleo de cravo, observaram que os animais não apresentaram reações adversas quando expostos à quantidade de álcool utilizado na diluição do anestésico. Esse padrão hiperativo também foi observado em juvenis de pintado, *Pseudoplatystoma corruscans*, anestesiados com eugenol (VIDAL et al., 2006). Da mesma forma, exemplares de paulistinha (*Danio rerio*), expostos a 1;2 e 5ppm de óleo de cravo durante 96 horas, não apresentaram nenhuma mudança no padrão comportamental, obtiveram uma sobrevivência de 100% nas duas menores concentrações e apenas uma mortalidade na maior concentração, após as 96 horas de experimento (GRUSH et al., 2004).

Tabela 2. Eventos comportamentais, em segundos (média $\pm$ desvio padrão da média), de juvenis de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) expostos a diferentes concentrações de óleo de cravo

Dose (mg/L)	Evento comportamental (segundos)					
	Estágio I	Estágio II	Estágio III	Estágio IV	Estágio V	Recuperação
30	44,8 $\pm$ 3,5 ^a	63,4 $\pm$ 4,0 ^a	89,8 $\pm$ 5,5 ^a	157,7 $\pm$ 13,6 ^a	300,6 $\pm$ 24,2 ^a	239,8 $\pm$ 10,4 ^a
60	22,1 $\pm$ 2,3 ^b	35,0 $\pm$ 2,0 ^b	48,5 $\pm$ 2,5 ^b	77,0 $\pm$ 3,8 ^b	227,4 $\pm$ 9,3 ^b	212,2 $\pm$ 13,2 ^b
120	16,7 $\pm$ 1,3 ^{b,c}	27,3 $\pm$ 1,4 ^{b,c}	38,0 $\pm$ 1,6 ^c	52,1 $\pm$ 1,8 ^c	171,3 $\pm$ 8,8 ^c	480,2 $\pm$ 65,6 ^c
180	14,9 $\pm$ 1,2 ^{b,c}	22,7 $\pm$ 1,0 ^{c,d}	30,4 $\pm$ 1,4 ^{c,d}	39,1 $\pm$ 1,5 ^c	119,2 $\pm$ 5,9 ^d	456,9 $\pm$ 53,8 ^c
240	11,0 $\pm$ 0,3 ^c	17,6 $\pm$ 0,4 ^d	24,9 $\pm$ 0,9 ^d	33,0 $\pm$ 1,1 ^c	47,8 $\pm$ 1,8 ^c	1209,8 $\pm$ 163 ^c
300	10,8 $\pm$ 0,4 ^c	16,6 $\pm$ 0,5 ^d	23,8 $\pm$ 0,9 ^d	30,2 $\pm$ 1,2 ^c	37,2 $\pm$ 1,4 ^c	2324,6 $\pm$ 113 ^c

Médias seguidas pela mesma letra na mesma coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05)

Os tempos para atingir o estágio de anestesia profunda para as concentrações de 120; 180; 240 e 300mg/L foram de 52,1 $\pm$ 1,8; 39,1 $\pm$ 1,5; 33,0 $\pm$ 1,1 e 30,2 $\pm$ 1,2 segundos, respectivamente (Tabela 2). Não foram observadas diferenças significativas entre si e todos ficaram dentro do limite de tempo considerado seguro para indução à anestesia profunda

($\leq$ 180 segundos). No entanto, as duas maiores concentrações não permitiram a recuperação dos animais em menos de 10 minutos, tempo considerado seguro por Park et al., (2009).

A concentração de 30mg/L apresentou diferença significativa no tempo de indução aos diferentes estágios de anestesia quando comparada às demais

concentrações testadas. A indução à anestesia profunda deu-se em $157,7 \pm 13,6$ segundos, ainda dentro do limite de segurança indicado por Park et al. (2009), assim como o tempo de recuperação ($239,8 \pm 10,4$ segundos), o que sugere a referida concentração como a ideal para utilização durante procedimentos rápidos. Esta concentração de óleo de cravo foi próxima à concentração de 37,5mg/L sugerida por Vidal et al. (2007a) para juvenis de piavuçu (*Leporinus macrocephalus*). Deve-se levar em consideração que o tempo de indução obtido pelos referidos autores, foi de aproximadamente um minuto, o que possibilita a utilização de uma concentração inferior com maior tempo de exposição e dentro dos limites de segurança.

Em relação ao tempo de recuperação dos peixes expostos às diferentes concentrações de óleo de cravo, observou-se uma tendência à correlação positiva entre o aumento da concentração e o tempo de recuperação, com exceção dos animais submetidos à concentração de 60mg/L. A mesma tendência foi observada por Park et al. (2008), ao anestesiarem *Epinephelus bruneus* com óleo de cravo, bem como por Simões et al. (2010), ao anestesiarem adultos de tilápia do Nilo.

O tempo médio de recuperação dos indivíduos submetidos à concentração de 30mg/L foi de $239,8 \pm 10,4$ segundos. Este tempo foi inferior ao registrado por Simões & Gomes (2009), ao utilizarem a concentração de 50mg/L de mentol para juvenis de tilápia, e superior ao tempo de 49 segundos encontrado por Vidal et al. (2007a) ao avaliarem o óleo de cravo para anestesiarem juvenis de tambaqui, *Colossoma macropomum*.

A curva de regressão (Figura 1) obtida entre as diversas concentrações de óleo de cravo testadas e o tempo de indução à anestesia profunda foi semelhante ao encontrado por Vidal et al. (2007b). O modelo matemático ajustado para presumir o efeito do óleo de cravo na indução anestésica de juvenis de tilápia do Nilo foi do tipo $I = 1444,4 \times [C]^{-0,691}$, no qual I é o tempo necessário para a indução anestésica e [C] a concentração do anestésico empregada. O modelo de regressão utilizado no presente trabalho concorda com o proposto por Inoue et al. (2003). Em ambos os casos foi observado uma redução gradual no tempo de indução anestésica à medida que a concentração do anestésico foi aumentada, com tendência a uma estabilização nas concentrações mais elevadas.

Nos testes para determinação da concentração letal do óleo de cravo, juvenis expostos à concentração de 350mg/L por 10 minutos não atingiram o colapso medular. Porém, os indivíduos saíram da indução anestésica com o batimento opercular muito lento e o tempo de recuperação, superior a 20 minutos (Tabela 3), ficou bem acima do limite de 10 minutos considerado seguro por Park et al. (2009). Portanto, apesar da exposição a esta concentração por 10 minutos não ter sido letal para os juvenis de tilápia, não é recomendada o uso de uma dose tão elevada.

A rápida indução à anestesia profunda em *Sparus aurata* (150 ± 16 g), observada por Ortuño et al. (2002) também não resultou em nenhuma mortalidade após os indivíduos terem sido anestesiados com 0,19mM de MS222, 0,21mM de benzocaína, 1,6mM de 2-fenoxietanol e 0,083mM de sulfato de quinaldina.

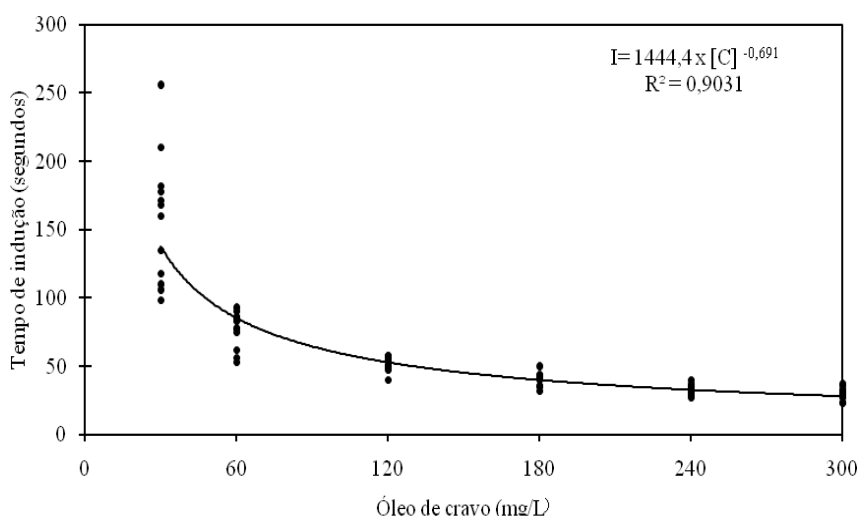


Figura 1. Curva de regressão entre a concentração do anestésico (óleo de cravo) e o tempo necessário para atingir anestesia profunda em juvenis de tilápia do Nilo

Tabela 3. Valores médios de recuperação e do estágio VI (colapso medular), de juvenis de tilápia do Nilo expostos a altas concentrações de óleo de cravo

350 mg/L		400 mg/L	
Recuperação	Colapso medular	Recuperação	Colapso medular
1.210 segundos	-	-	264 segundos

Os juvenis de tilápia do Nilo não resistiram a 10 minutos de exposição à concentração de 400mg/L do óleo de cravo, uma vez que atingiram o colapso medular em 264 segundos. Este estágio foi facilmente caracterizado pela total ausência do batimento opercular, cuja evidência foi uma parada de ventilação. Kaiser et al. (2006) analisaram a sobrevivência do ciclídeo *Haplochromis obliquidens* ($16,6 \pm 1,49g$) após anestesiá-los com 20 e 30µl/L de óleo de cravo, durante 12, 24 e 48 horas. Os mesmos autores não registraram nenhuma mortalidade ao anestesiarem os indivíduos com 20µl/L. Entretanto os peixes (n=5) não resistiram a uma exposição de 30µl/L durante 12 horas, uma vez que não foi registrada nenhuma sobrevivência.

A concentração de glicose sanguínea dos juvenis de tilápia, antes da anestesia, foi de $60,0 \pm 3,40mg/dL$, este o menor valor registrado no experimento. Indivíduos amostrados imediatamente após a anestesia profunda (IAP) e imediatamente após a recuperação (IAR), apresentaram valores de glicose de $85,8 \pm 7,04$ e $90,8 \pm 9,37 mg/dL$, respectivamente, no entanto não houve diferença significativa entre estes e o grupo controle, conforme apresentado na Figura 2.

O grupo amostrado 30 minutos após a recuperação (30 AR) apresentou o maior valor de glicose sanguínea ($124,2 \pm 18,62mg/dL$) dentre os juvenis expostos ao óleo de cravo, o que diferiu estatisticamente do grupo controle. O aumento da glicose indica um maior consumo de energia e resposta

metabólica mais elevada. Apesar da tendência de redução na glicose sanguínea no grupo amostrado 60 minutos após a recuperação ($110,2 \pm 12,08\text{mg/dL}$) em relação ao grupo 30 AR, não houve diferença significativa entre os mesmos, porém ambos diferiram significativamente do grupo controle. Resultado semelhante foi registrado por Cho & Heath (2000) ao analisarem o efeito fisiológico do óleo de cravo em espécimes do salmão *Oncorhynchus tshawytscha*, quando os

autores também registraram diferença significativa na concentração de glicose sanguínea, 60 minutos após a exposição dos peixes ao anestésico. A anestesia de dourada, *Sparus aurata*, com diferentes concentrações de benzocaína, MS-222, 2-fenoxietanol e sulfato de quinaldina, também resultou em diferença significativa no teor de glicose sanguínea dos animais amostrados uma hora após a exposição aos anestésicos em relação ao grupo de peixes não anestesiados (ORTUÑO et al., 2002).

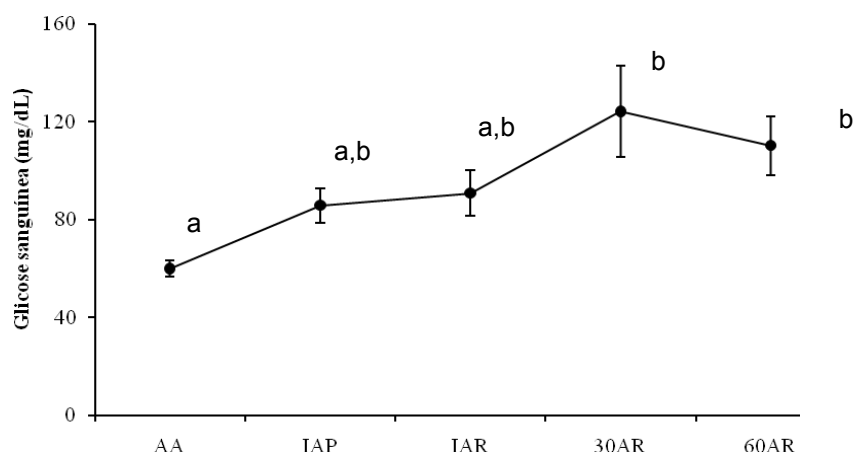


Figura 2. Nível de glicose sanguínea (média $\pm$ desvio padrão da média) de juvenis de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), antes e após o procedimento de anestesia com óleo de cravo. AA = antes da anestesia (controle); IAP = imediatamente após atingir o estágio de anestesia profunda; IAR = imediatamente após a recuperação; 30AR e 60AR = 30 e 60 minutos após a recuperação. Letras diferentes indicam diferença estatística significativa ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey.

O óleo de cravo se mostrou eficaz para anestesia de juvenis de tilápia, uma vez que submetidos à concentração considerada ideal os peixes não apresentaram nenhuma alteração aparente em relação ao comportamento e sanidade. A concentração de 30mg/L de óleo de cravo foi considerada recomendada para indução à anestesia profunda, sugerida

para utilização durante manejos rápidos como biometrias. A concentração letal de óleo de cravo para juvenis de tilápia do Nilo é de 400mg/L durante 10 minutos de exposição.

A exposição dos peixes ao anestésico, embora possa facilitar o manejo, causou um aumento significativo na concentração de glicose sanguínea a

partir de 30 minutos de recuperação. Estudos futuros, que utilizem maior número de parâmetros fisiológicos poderão ampliar o entendimento das respostas indicadoras de estresse da tilápia do Nilo exposta ao óleo de cravo.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Capes e à Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico – Funcap, pelo apoio financeiro concedido durante a pesquisa e ao Centro de Pesquisa em Aquicultura do Departamento Nacional de Obras Contra as Secas (DNOCS), Pentecoste – CE, pelo apoio logístico.

REFERÊNCIAS

- CHO, G.K.; HEATH, D.D. Comparison of tricaine methenesulfonate (MS222) and clove oil anesthesia effects on physiology of juvenile chinook salmon *Oncorhynchus tshawytscha* (Watbaun). **Aquaculture Research**, v.31, n.6, p.537-546, 2000.
- 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, n.1-4, 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: Molecular & Integrative Physiology**, v.145, n.2, p.158-165, 2006.
- FENG, G.; ZHUANG, P.; ZHANG, L.; KYNARD, B.; SHI, X.; DUAN, M.; LIU, J.; HUANG, X. Effect of anaesthetics MS-222 and clove oil on blood biochemical parameters of juvenile Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*). **Journal of Applied Ichthyology**, v.27, p.595-599, 2011.
- GRUSH, J.; NOAKES, D.L.G.; MOCCIA, R.D. The Efficacy of Clove Oil As An Anesthetic for the Zebrafish, *Danio rerio* (Hamilton). **Zebrafish**, v.1, n.1, p.46–53, 2004.
- HAJEK, G.J.; KLYSZEJKO, B.; DZIAMAN, R. The anaesthetic effect of clove oil on common carp, *Cyprinus carpio* L. **Acta Ichthyologica et Piscatoria**, v.36, n.2, p.93-97, 2006.
- INOUE, L.A.K.A; SANTOS NETO, C.; MORAIS, G. Clove oil as anaesthetic for juveniles of matrinxã *Brycon cephalus* (Gunther, 1869). **Ciência Rural**, v.33, n.5, p.943-947, 2003.
- IVERSEN, M.; FINSTAND, B.; MCKINLEY, R.S.; ELIASSEN, R.A. The efficacy of metomidate, clove oil, Aqui-S and Benzoak® as anaesthetics in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) smolts, and their potential stress-reducing capacity. **Aquaculture**, v.221, n.1-4, p.549–566, 2003.
- KAISER, H.; BRILL, G.; CAHILL, J.; COLLETT, P.; CZYPIONKA, K.; GREEN, A.; ORR, K.; PATTRICK, P.; SCHEEPERS, R.; STONIER, T.; WHITEHEAD, M.A.; YEARSLEY, R. Testing clove oil as an anaesthetic for long-distance transport of live fish: the case of the Lake Victoria cichlid *Haplochromis obliquidens*. **Journal Applied Ichthyology**, v.22, n.6, p.510-514, 2006.

MOREIRA, A.G.L.; TEIXEIRA, E.G.; CARREIRO, C.R.P.; MOREIRA, R.L.; Eficácia do eugenol extraído da planta *Eugenia aromatica* como anestésico para realização de biometrias em adultos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Acta Scientiarum: Animal Science**, v.32, n.4. p.419-423, 2010.

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, n.1-4, p.467-481, 2005.

OKAMOTO, M.H.; TESSER, M.B.; LOUZADA, L.R.; SANTOS, R.A.; SAMPAIO, L.A.. Benzocaína e eugenol como anestésicos para juvenis do pampo *Trachinotus marginatus*. **Ciência Rural**, v.39, n.3, p.866-870, 2008.

ORTUÑO, J.; ESTEBAN, M.A.; MESEGUER, J. Effects of four anaesthetics on the innate immune response of gilthead seabream (*Sparus aurata* L.). **Fish & Shellfish Immunology**, v.12, n.1, p.49-59, 2002.

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, n.8, 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, n.3-4, p.427-430, 2009.

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

ROUBACH, R.; GOMES, L.C.; FONSECA, F.A.L.; VAL, A.L. Eugenol as an efficacious anaesthetic for tambaqui, *Colossoma macropomum* (Cuvier). **Aquaculture Research**, v.36, n.11, p.1056-1061, 2005.

SIMÕES, L.N.; GOMES, L.C. Eficácia do mentol como anestésico para juvenis de tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.61, n.3, p.613-620, 2009.

SIMÕES, L. N.; PAIVA, G.; GOMES, L. C. Óleo de cravo como anestésico em adultos de tilápia-do-nilo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.45, n.12, p.1472-1477, 2010.

VIDAL, L.V.O.; ALBINATI, R.C.B.; ALBINATI, A.C.L.; MACÊDO, G.R. Utilização do eugenol como anestésico para o manejo de juvenis de Pintado (*Pseudoplatystoma corruscans*). **Acta Scientiarum Biological Science**, v.28, n.3, p.275-279, 2006.

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

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

ZAHL, I.H.; KIESSLING, A.;
SAMUELSEN, O.B.; HANSEN, M.K.
Anaesthesia of Atlantic cod (*Gadus
morhua*) – effect of pre-anaesthetic
sedation, and importance of body
weight, temperature and stress.
Aquaculture, v.295, n.1-2, p.52-59,
2009.

Data de recebimento: 28/12/2010

Data de aprovação: 24/08/2011