

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY
RIBEIRO**

SILVIO AKIRA UEHARA

**AVALIAÇÃO DE ANESTÉSICOS PARA O MANEJO DE LAMBARI-
BOCARRA (*Oligosarcus argenteus*, Gunther, 1864)**

**CAMPOS DOS GOYTACAZES
MARÇO - 2018**

SILVIO AKIRA UEHARA

**AVALIAÇÃO DE ANESTÉSICOS PARA O MANEJO DE LAMBARI-
BOCARRA (*Oligosarcus argenteus*, Gunther, 1864)**

“Dissertação apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.”

ORIENTADOR: DÁLCIO RICARDO DE ANDRADE

CO-ORIENTADOR: MANUEL VAZQUEZ VIDAL JÚNIOR

CAMPOS DOS GOYTACAZES

MARÇO - 2018

SILVIO AKIRA UEHARA

**AVALIAÇÃO DE ANESTÉSICOS PARA O MANEJO DE LAMBARI-
BOCARRA (*Oligosarcus argenteus*, Gunther, 1864)**

“Dissertação apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Apresentado em 05 de março de 2018.

Prof. Dr. Shaytner Campos Duarte (D.Sc. Ciência Animal) – FIPERJ

Profa. Dra. Rita da Trindade Ribeiro Nobre Soares (D.Sc. Zootecnia) – UENF

Prof. Dr. Manuel Vazquez Vidal Júnior (D.Sc. Zootecnia) – UENF

Prof. Dr. Dálcio Ricardo de Andrade – (D.Sc. Ciências Morfológicas) - UENF
(Orientador)

AGRADECIMENTOS

Meus agradecimentos não caberiam em apenas uma página, a síntese de gratidão se resume em especial ao ciclo envolvido durante esta pós-graduação.

Com todo meu carinho e gratidão eu agradeço à minha família, aos meus amigos, aos meus colegas de trabalho da Fundação do Instituto de Pesca do Estado do Rio de Janeiro FIPERJ e aos colegas da Universidade Estadual Norte Fluminense (UENF) e por que não dizer aos meus atuais pets os lambari-bocarra!

Em destaque aos meus queridos pais Seisho Uehara e Kasuko Uehara, as minhas irmãs Karina Mayumi e Ana Harumi pelo amor incondicional.

Em especial a Isabel Cristina Del Matto (S2), Liz Mônica e Walter que me mostraram o caminho da meditação e da introspecção (#quietude).

Aqueles amigos que não existem barreiras geográficas e estão presentes em todo momento: Eduardo Vieira, Cristina Osório, Rogger Reis e Igor Lombardi.

Para os novos amigos que parecem ser de longa data e “pior” já possuem total intimidade: Camila Campos, Rodrigo Oliveira, Daniel Fontes e Daniel Miranda. Obrigado por me permitirem respirar e viver a vida como ela é!

Ao Rodrigo Takata pelo apoio, os conselhos e a grande amizade! Fez deste trabalho e muitos outros o real significado do trabalho em equipe (#não abandone o grupo).

Ao Borges e Giovana e toda equipe da BG Engenharia por acreditarem e confiarem no meu trabalho e me auxiliarem na carreira profissional.

A toda equipe da Unidade Didática de Pesquisa, Produção de Peixes de Cordeiro (UDPPPC) e o Escritório Regional Centro Norte Fluminense: Gilson, Amaro, Dione, Cesar, Ana Paula, Andrea, Maria Eugenia e Flavio Matos em ótimas conversas, conhecimentos compartilhados e literalmente uma unidade didática de vida.

Ao meu orientador Dálcio Ricardo de Andrade e co-orientador Manuel Vazquez Vidal Junior que levarei para sempre aquelas “dicas” aparentemente simples, mas de longa reflexão, que durante os experimentos me recordava e dizia “hummmm....”. Obrigado pelas aulas, pela confiança e por toda a ajuda concedida!

Sinto-me honrado por participar desta pós-graduação.

Obrigado Deus durante todo o trajeto

RESUMO

UEHARA, Silvio Akira, M.S. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Março, 2018. AVALIAÇÃO DE ANESTÉSICOS PARA O MANEJO DE LAMBARI-BOCARRA (*Oligosarcus argenteus*, Gunther, 1864).

A primeira parte corresponde à revisão dos anestésicos sintéticos e os naturais em específico ao MS-222 (triclaína), a benzocaína, o óleo de cravo e o mentol, com as descrições dos principais mecanismos de ação, farmacocinética, toxicidade e efeitos colaterais. Foram descritos os principais estudos com as indicações das concentrações ideais dos anestésicos para as espécies de importância na piscicultura no Brasil. Entre os principais estudos os peixes ornamentais e marinhos apresentam poucas referências em relação aos peixes de corte de água doce. O óleo de cravo corresponde ao principal anestésico com ampla caracterização das concentrações ideais para as espécies nativas e de importância econômica brasileira, contudo, o mentol surge como anestésico em potencial pela eficácia, baixo custo e boa margem de segurança, e os anestésicos sintéticos ainda carecem de informações em virtude do alto custo. Os resultados apontam para diversos trabalhos aplicados em juvenis, com poucos estudos na fase de desenvolvimento de reprodutores. São descritos os principais fatores que influenciam a eficácia dos anestésicos que variam desde efeitos biológicos e ambientais. Os protocolos de anestesia se tornam importantes nas diversas fases de desenvolvimento, pois corresponde a um dos fatores biológicos que afetam a eficácia dos anestésicos, devido às alterações fisiológicas e em respostas metabólicas distintas. A anestesia em larvas ou juvenis pode resultar em mortalidades, devido a sua maior sensibilidade do que os adultos. Entende-se a importância da anestesia na fase adulta para manejo em procedimentos de reprodução artificial. A anestesia deve ser realizada rapidamente e de modo adequado para não promover o colapso medular e impedir o acúmulo dos fármacos nos tecidos em exposições prolongadas. O capítulo 1 apresenta avaliação da eficácia de quatro agentes anestésicos (triclaína, benzocaína, óleo de cravo e mentol) para o manejo de adultos de lambari-bocarra *Oligosarcus argenteus*. Os adultos com peso médio de $11,3 \pm 3,3$ g e comprimento total de $10,2 \pm 1,1$ cm foram expostos nas concentrações de 25, 50, 75, 100, 125 mg L⁻¹ para a benzocaína, óleo de cravo e mentol, o MS-222 com adicional das concentrações de 150 e 175 mg L⁻¹ até a anestesia profunda e cirúrgica. Para todos os anestésicos, o aumento das concentrações proporcionou uma diminuição do tempo de indução. Entre os anestésicos avaliados, o óleo de cravo apresentou a menor concentração efetiva para induzir a anestesia. Não foram encontrados efeitos dos anestésicos sobre a mortalidade dos peixes durante os experimentos e o retorno do apetite ocorreu antes das 24h. Em conclusão, os anestésicos testados foram eficazes para induzir *O. argenteus* à anestesia, e as concentrações indicadas para a anestesia profunda foram de 100 e 75 mg L⁻¹ para MS-222 e benzocaína, respectivamente, e 50 mg L⁻¹ para óleo de cravo e mentol. Para o estágio cirúrgico, as concentrações recomendadas foram 150, 100, 75 e 100 mg L⁻¹ para MS-222, benzocaína, óleo de cravo e mentol, respectivamente.

Palavras chaves: MS-222, benzocaína, óleo de cravo; mentol, anestésicos naturais e sintéticos, manejo, anestesia profunda, aquicultura.

ABSTRACT

UEHARA, Silvio Akira, M.S. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. March, 2018. AVALIAÇÃO DE ANESTÉSICOS PARA O MANEJO DE LAMBARI-BOCARRA (*Oligosarcus argenteus*, Gunther, 1864).

The first part corresponds to the review of synthetic and natural anesthetics specifically MS-222 (tricaine), benzocaine, clove oil and menthol, with descriptions of the main mechanisms of action, pharmacokinetics, toxicity and side effects. The main studies with of the ideal concentrations of anesthetics for species of importance in fish farming in Brazil have been described. Among the major studies, ornamental and marine fish have few references than freshwater fish. Clove oil corresponds to the anesthetic with a broad characterization of the ideal concentrations for native species and of Brazilian economic importance, however, menthol appears as a potential anesthetic for its effectiveness, low cost and good margin of safety, and synthetic anesthetics lack information due to their high cost. The results point to several works applied in juveniles, with few studies in the reproductive phase of development. The main factors that influence the efficacy of anesthetics that vary in function of the biological and environmental effects are described. Anesthesia protocols become important in the various stages of development because it corresponds to one of the biological factors that affects the efficacy of anesthetics due to physiological changes and distinct metabolic responses. Anesthesia in larvae or juveniles may result in mortalities due to their greater sensitivity than adults. It is understood the importance of the knowledge of anesthesia in the adult phase for handling in procedures such as artificial reproduction. Anesthesia should be performed rapidly and adequately so as not to promote spinal cord collapse and to prevent accumulation of drugs in tissues during prolonged exposures. Chapter 1 presents the efficacy of four anesthetic agents (tricaine, benzocaine, clove oil and menthol) for the management of adult lambari-bocarra *Oligosarcus argenteus*. Adults with average 11.3 ± 3.3 g and total length of 10.2 ± 1.1 cm were exposed to concentrations of MS-222 (25, 50, 75, 100, 125, 150 e 175 mg L⁻¹), benzocaína (25, 50, 75, 100 e 125 mg L⁻¹), clove oil (25, 50, 75, 100 e 125 mg L⁻¹) e mentol (25, 50, 75, 100 e 125 mg L⁻¹) until deep and surgical anesthesia. For all anesthetics, increasing concentrations provided a decrease in induction time. Among the anesthetics evaluated, clove oil presented the lowest effective concentration to induce anesthesia. There were no effects of anesthetics on fish mortality during the experiments and appetite return occurred before 24h. In conclusion, the anesthetics tested were effective in inducing *O. argenteus* to anesthesia, and the indicated concentrations for deep anesthesia were 100 and 75 mg L⁻¹ for MS-222 and benzocaine, respectively, and 50 mg L⁻¹ for clove oil and menthol. For the surgical stage, the recommended concentrations were 150, 100, 75 and 100 mg L⁻¹ for MS-222, benzocaine, clove oil and menthol, respectively.

Keywords: MS-222, benzocaine, clove oil; menthol, natural and synthetic anesthetic, handling, deep anesthesia, aquaculture.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Curvas de regressão ajustadas aos tempos de indução e recuperação à anestesia cirúrgica em adultos de <i>O. argenteus</i> expostos às diferentes concentrações de tricaína (A), benzocaína (B), óleo de cravo (C) e mentol (D).....	58
---	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Critérios de indução e recuperação da anestesia, utilizados para determinar a eficácia da tricaína, benzocaína, óleo de cravo e mentol como anestésico em <i>O. argenteus</i> ...	53
Tabela 2. Média dos parâmetros de qualidade da água durante a indução e recuperação com a tricaína (MS-222), benzocaína, óleo de cravo e mentol.	54
Tabela 3. Número de peixes que atingiram os estágios anestésicos I, II, III e IV de cada fármaco e suas respectivas concentrações durante 30 minutos de observação. Quantitativo de mortalidade durante os experimentos e após 96 h e tempo de retorno ao apetite.	55
Tabela 4. Tempo de indução até a anestesia profunda para o <i>O. argenteus</i> exposto a diferentes concentrações de tricaína (MS-222), benzocaína, óleo de cravo e mentol.....	57

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	10
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	12
2.1 PANORAMA GERAL DA AQUICULTURA CONTINENTAL	12
2.2 CARACTERÍSTICAS DO GÊNERO <i>Oligosarcus spp.</i> : ÊNFASE <i>Oligosarcus</i> <i>argenteus</i>	13
2.3 EFEITOS DOS ANESTÉSICOS (ESTRESSE)	14
2.4 PROTOCOLOS ANESTÉSICOS.....	16
2.4.1. ANESTÉSICO MS-222.....	16
2.4.2 ANESTÉSICO BENZOCAÍNA	18
2.4.3. ANESTÉSICO ÓLEO DE CRAVO	21
2.4.4. ANESTÉSICO MENTOL	24
2.5. FATORES QUE INFLUENCIAM A EFICÁCIA DOS ANESTÉSICOS.....	27
REFERÊNCIAS	29
3. OBJETIVO	46
3.1 OBJETIVO GERAL	46
3.2 OBJETIVO ESPECÍFICO	46
CAPÍTULO 1	47
RESUMO	48
ABSTRACT	49
INTRODUÇÃO.....	50
MATERIAL E MÉTODOS.....	51
ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	53
RESULTADOS	54
DISCUSSÃO	59
CONCLUSÃO.....	63
REFERÊNCIAS	64
4. CONCLUSÕES GERAIS	70
ANEXO I.....	71
ANEXO II	72
ANEXO III	73
ANEXO IV	75

1. INTRODUÇÃO

O Brasil possui atributos favoráveis para o crescimento da aquicultura, este potencial se relaciona à dimensão continental, com cerca de 8 mil quilômetros de extensão costeira e 3,5 milhões de quilômetros quadrados de zona econômica exclusiva (ZEE), com clima propício e biodiversidade de espécies em potencial zootécnico para a aquicultura (ROCHA et al., 2013).

Segundo Sidonio et al. (2012), parte do consumo nacional de pescado foi suprida por importações de peixes, principalmente relacionado ao bacalhau e ao salmão, mesmo assim, a média do consumo no Brasil foi de 9 kg/hab/ano em 2012, sendo que a Organização Mundial da Saúde (OMS) preconiza o consumo de 12kg/hab/ano. Há uma potencialidade para a aquicultura nacional atender a demanda crescente, contudo há alguns entraves na cadeia produtiva e nos incentivos quanto às pesquisas de desenvolvimento de espécies nativas.

O manejo inadequado durante as pesquisas ou na produção pode desencadear o estresse e consequentemente afetar o equilíbrio da homeostase do organismo, capaz de alterar negativamente a fisiologia do animal (LIMA et al., 2006). Os anestésicos são utilizados nos procedimentos rotineiros da piscicultura de modo a minimizar a excitação e o traumatismo relacionado à hiperatividade, considerado causadora de injúrias aos animais (COYLE et al. 2004). A diminuição do movimento minimizou o dano ao tegumento e a susceptibilidade a agentes patogênicos (KUMLU; YANAR, 1999). A redução do metabolismo resultou na diminuição da demanda por oxigênio, portanto, reduziu a produção de resíduos como o CO₂ e a amônia (GUO et al., 1995; ROSS; ROSS, 2008).

Neste contexto, a sedação dos animais durante o manejo deve ser estudada a fim de mitigar os impactos negativos na produção (BITTENCOURT et al., 2012; SOUZA et al., 2013). Os anestésicos podem ser aplicados em peixes durante a reprodução, biometria, marcação, classificação, coleta de sangue, transporte e procedimentos cirúrgicos (BARTON; IWAMA, 1991; ANDERSON et al., 1997; JEPSEN et al., 2002; KING et al., 2005; SNEDDON, 2012).

Entre os atributos desejáveis dos anestésicos na aplicação em peixes foram incluídas: rápida indução e recuperação, baixo grau e/ou ausência de toxicidade em peixes e humanos, sem efeitos fisiológicos adversos, alta liberação e/ou excreção do fármaco pelo organismo, alta solubilidade na água, estável em condições normais de armazenamento (luz, calor), disponível no mercado e baixo custo (SCHOETTGER; JULIN, 1967; ROUBACH; GOMES, 2001; ROSS; ROSS, 2008).

A anestesia em peixes pode ser induzida por diferentes agentes sintéticos, como a tricaína metano sulfonato (TMS ou MS-222), quinaldina, benzocaína e 2-fenoxietanol (JAVAHERY et al., 2012). A tricaína metano sulfonato (TMS, MS-222) é considerado o único produto recomendado pela *US Food and Drug Administration* (FDA) para peixes de consumo, contudo após a aplicação devem ser mantidos por mínimo de 21 dias de depuração (WOODY et al., 2002; FDA, 2017). No cenário brasileiro a benzocaína atuou como substituto do MS-222 em procedimentos de manejo, devido seu preço mais acessível (INOUE et al., 2002).

Porém, fatores como a disponibilidade, acessibilidade e o próprio preço desses produtos sintéticos impulsionaram pesquisas voltadas para a busca de anestésicos naturais (e.g. óleo de cravo e mentol), que sejam menos nocivos aos animais em cultivo, aos produtores e ao meio ambiente (BITTENCOURT et al., 2012).

Entre os anestésicos naturais o óleo de cravo foi considerado um anestésico eficaz e seguro, sendo mais potente que os anestésicos sintéticos utilizados em peixes, além de ser aplicado como um anestésico local em humanos (SOTO; BURHANUDDIN, 1995; WOODY et al., 2002; ROSS; ROSS, 2008). Para Roubach et al. (2005) os anestésicos naturais geralmente apresentam baixo custo e fácil aquisição. O óleo de cravo e o mentol são considerados seguros para o uso GRAS - *Generally Recognized As Safe* (FDA, 2017).

A eficácia e a segurança dos anestésicos variam intra e extraespecífica (HOUSTON; WOODS, 1976; STRANGE; SCHRECK, 1978; MASSEE et al., 1995; RIBEIRO et al., 2015). Para Diemer et al. (2012) existem poucas informações sobre as concentrações dos anestésicos que devem ser utilizadas para as espécies de peixes nativas. Pádua et al. (2010) consideraram a sensibilidade quanto aos anestésicos de espécie-específica. As doses administradas inadequadamente podem levar o animal à morte, sendo importante o conhecimento da concentração ideal (ROUBACH; GOMES, 2001).

As informações sobre a produção do lambari bocarra *Oligosarcus argenteus* são escassas e este estudo traz novas considerações para diminuir o estresse durante o seu manejo. Lambari bocarra (*O. argenteus*) é uma importante espécie de ictiofauna brasileira (MATTA et al., 2009; CARMASSI et al., 2011; MARQUES et al., 2013), com potencial para a lambaricultura (YASUI; ANDRADE, 2003; SILVA et al., 1994) contudo, há informações limitadas para completar o pacote tecnológico.

Desta forma, nosso estudo teve como objetivo melhorar o conhecimento sobre a anestesia de lambari bocarra avaliando a eficácia da tricaína, benzocaína, óleo de cravo e

mentol como anestésicos. Além disso, os resultados colaborarão com a construção de pacotes tecnológicos para a produção do lambari.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 PANORAMA GERAL DA AQUICULTURA CONTINENTAL

A aquicultura tem uma grande importância no setor da produção mundial de peixes, em 2014 foi de 73,8 milhões de toneladas, com a geração de renda de aproximadamente US\$ 160,2 bilhões. A China foi líder na produção mundial em 2014 com 62% (45,5 milhões de ton.) e o Brasil ficou em 14º lugar (FAO, 2016).

A aquicultura brasileira atingiu o valor de produção de R\$ 4,61 bilhões em 2016, com a maior parte (70,9%) oriunda da criação de peixe com 507,12 mil toneladas, com aumento de 4,4% em relação ao ano anterior. Seguido pela carcinicultura com 52,12 mil ton. e a malacocultura com 20,83 mil ton. (IBGE 2016).

A região norte do Brasil foi a principal produtora, contabilizando 149,75 mil toneladas, o equivalente a 29,5% do total produzido, seguido pelas regiões sul com 125,46 mil toneladas, o sudeste com 88,12 mil toneladas, o nordeste com 79,96 mil toneladas e o centro oeste com 63,84 mil toneladas (IBGE 2016).

Foram descritas 34 espécies de peixes com produção relevante, sendo, três espécies exóticas (tilápia, carpa e a truta). A criação de tilápia ocupou o primeiro lugar com 239,09 mil toneladas despescadas, equivalente a 47,1% do total da piscicultura, seguido pelo tambaqui com 136,99 mil toneladas (27,0%) (IBGE, 2016).

A produção de lambaris foi de 234,71 ton. representando 0,046% na produção total. Contudo, as características desejáveis dos lambaris permitem estar entre as espécies em potencial na produção aquícola brasileira. Sabbag et al. (2011) consideraram os lambaris importantes na alimentação (e.g. petiscos e conservas) e como isca-viva na pesca esportiva de peixes carnívoros. Freire et al. (2012) indicaram o crescimento na pesca recreativa com base no aumento de 220% do número de emissões de licenças entre anos de 2000 a 2010, com a estimativa de cerca de 10 milhões de pescadores cadastrados.

Sussel (2012) apresenta a lambaricultura como atividade economicamente viável, favorecida pela aceitação do mercado e suas características zootécnicas. Para Contan et al. (2006), o rendimento de carcaça do lambari (*Astyanax* spp) é de até 87% e, o peso de comercialização varia de 7 a 30 g (SILVA et al., 2011).

Neste âmbito se observa a oportunidade de contribuir nas pesquisas de desenvolvimento de pacote tecnológico para o manejo de lambari-bocarra (*Oligosarcus argenteus*) uma espécie nativa com potencialidades à lambaricultura.

2.2 CARACTERÍSTICAS DO GÊNERO *Oligosarcus* spp: ÊNFASE *Oligosarcus argenteus*

O lambari-bocarra (*Oligosarcus argenteus*) pertence à ordem Characiformes, subfamília *Acestrorhynchinae*, encontrado nas bacias hidrográficas brasileiras, em ambientes lóticos e lênticos, onde são capazes de se reproduzir (SOUZA; ANDRADE, 1984).

No passado foram realizados estudos sobre a produção (SOUZA; ANDRADE, 1984; SILVA, 1990; YASUI; ANDRADE, 2003), nutrição, ecologia e ciclo reprodutivo (SANTOS, 1993; ANDRADE et al., 1995; SANTOS et al., 1995), morfologia (MATTA et al., 1994; VIEIRA et al., 2015) e caracterização histoquímica (NEVES et al., 1991, 1995, 1996) de *O. argenteus*.

Yasui; Andrade (2003) indicaram as técnicas de reprodução natural e coleta de alevinos ou reprodução artificial na produção de *O. argenteus*, com baixo canibalismo nas fases iniciais.

Segundo Souza; Andrade (1984) o lambari-bocarra apresentou altas taxas reprodutivas e pode ser utilizado em consórcio com espécies prolíferas, como no caso de controle da reprodução de tilápias (*Oreochromis niloticus*) em espaços pequenos. As espécies do gênero *Oligosarcus* foram consideradas como não migratórias, com fertilização externa, longo período reprodutivo, desova parcelada e sem cuidado parental (VAZZOLER; MENEZES, 1992; MATTA et al., 2009; CARMASSI et al., 2011). As espécies do gênero foram consideradas carnívoras, variando de insetívoro na fase jovem a piscívora na fase adulta (HERMES-SILVA et al., 2004; ARAÚJO et al., 2005; BOTELHO et al., 2007; ABELHA et al., 2012).

O lambari bocarra (*O. argenteus*) apresenta os seguintes caracteres morfológicos; linha lateral com 44-48 escamas; 8-9 séries horizontais de escamas acima da linha lateral; 6-8 abaixo; 17-20 ao redor do pedúnculo caudal e 11-14 rastros no ramo inferior do primeiro arco branquial (VIEIRA et al., 2015).

O *O. argenteus* e *Oligosarcus solitarius* estão entre as espécies potencialmente ameaçadas de extinção, nas bacias do Rio São Francisco e do Rio Doce (BARROS et al.,

2015). Marques et al. (2013) descreveram a importância do lambari bocarra para a pesca de subsistência de comunidade ribeirinha do rio Manhuaçu, afluente do Rio Doce.

2.3 EFEITOS DOS ANESTÉSICOS (ESTRESSE)

Summerfelt e Smith (1990) descreveram a anestesia como um estado biológico com perda parcial ou total do controle neuromotor, induzido por agentes químicos ou não químicos, capaz de produzir o efeito calmante seguido de perda de equilíbrio, mobilidade e consciência. A utilização de protocolos de anestesia permitiu desenvolver as boas práticas durante os procedimentos de manipulação e garantir a segurança para o manipulador e o bem-estar animal (HARMS; BAKAL, 1995; ROSS; ROSS, 2008).

No geral, os anestésicos reduzem o estresse, mas também podem ter efeitos colaterais indesejados, portanto, devem ser utilizados com cautela (SMALL, 2003, 2004; ROSS; ROSS, 2008; ZAHL et al., 2012). Os anestésicos podem causar a supressão de diversas respostas de estresse o que facilita a manutenção da homeostase nos peixes (MARTINEZ-PORCHAS et al., 2009). Ademais, foram utilizados para reduzir o estresse durante o processo de abate, mantendo a qualidade da carne (BOSWORTH et al., 2007; RIBAS et al., 2007).

As respostas de estresse desencadeiam alterações fisiológicas classificadas em respostas primárias: aumento na secreção de catecolaminas, adrenalina, noradrenalina e cortisol no plasma; secundárias (ou metabólicas): alteração de glicose plasmática, lactato, parâmetros hematológicos, glicogênio hepático e muscular; e terciárias: resultam na queda de desempenho produtivo e a imunossupressão (WENDERLAAR-BONGA, 1997).

A ativação do eixo hipotálamo-pituitária-intrarrenal (HPI) resulta na liberação de cortisol e por meio de respostas fisiológicas tende a compensar o estresse, contudo, alguns anestésicos (e.g. metomidato e óleo de cravo) tendem a reduzir ou bloquear o eixo HPI (SKJERVOLD et al., 1999; IVERSEN et al., 2003; SMALL, 2003). O cortisol plasmático em bagre americano *Ictalurus punctatus* permaneceu nos níveis basais durante 30 min de anestesia com metomidato e óleo de cravo (SMALL, 2003).

O estresse crônico pode aumentar os níveis de cortisol e desencadear a imunossupressão (PICKERING; DUSTON, 1983; DAVIS; GRIFFIN et al., 2004). O estresse crônico está associado à sinergia de fatores ambientais, histórico de cultivo, estado nutricional e o manejo (IWAMA et al., 1999; MORALES et al., 2005).

Contudo, os anestésicos podem causar estresse agudo, como a benzocaína que estimulou a secreção de cortisol e alterou o número de eritrócitos e a concentração de

hemoglobina (BOLASINA, 2006). Para Small (2003), a elevação transitória de cortisol não reduz necessariamente a imunocompetência.

A sedação por meio de anestésico produziu menor estresse quando comparado com o manejo livre de fármaco, a análise foi realizada por níveis de cortisol, bem como de indicadores secundários como a glicemia, hematócrito (HCT), hemoglobina (Hgb) e lactato (HSEU et al., 1996; SMALL, 2003; BRESSLER; RON, 2004).

Os anestésicos foram efetivos na redução de estresse em *Trichogaster trichopterus* e apresentou níveis de cortisol plasmático significativamente menores com os anestésicos MS-222, hypno, metomidato e quinaldina em relação aos grupos com tratamento de sal (NaCl: 3g/L) e o controle, contudo os autores indicaram a importância do sal para o equilíbrio do sistema osmorregulatório (CROSBY et al. 2006).

Os anestésicos por imersão podem favorecer a liberação de catecolamina que se associa à hipóxia em vez do efeito direto do fármaco (ROTHWELL et al. 2005). Para Rantin et al. (1993) a hipoxemia se relaciona à hipoventilação, sintoma observado pela redução dos batimentos operculares. A hipoventilação e redução do fluxo de água na cavidade bucal promoveu a hipotensão arterial consequentemente uma progressiva hipoxemia (ROSS, 2001).

Durante o evento de hipóxia a resposta fisiológica dos peixes tende a manter o fornecimento de energia e oxigênio para o cérebro, que responde com o aumento de glicose plasmática, fornecendo subsídios para formação de adenosina trifosfato (ATP), que por sua vez aumentou o fluxo sanguíneo através dos efeitos de vasodilatação, com o aumento de hematócrito, responsável pelo transporte de oxigênio no sangue (SODERSTROM et al., 1999; ROUTLEY et al., 2002).

Para Ross (2001), a dosagem requer atenção cuidadosa, pois, pode produzir uma anestesia progressiva, em função do aumento na concentração do fármaco no cérebro e nos músculos, levando à parada respiratória (colapso medular) mesmo na recuperação. Altas concentrações de anestésico promovem uma rápida imobilização e não elevam os níveis plasmáticos de cortisol (BARTON, 2000).

Os anestésicos mais utilizados nas pisciculturas e nos centros de pesquisa são: MS-222 (tricaína metano sulfonato); óleo de cravo (4-alil-2-metoxifenol); benzocaína (etil-p-aminobenzoato); quinaldina (2-4-metilquinolina) ou quinaldina sulfato (sulfato de 2-4 metilquinolina); 2-fenoxietanol ou Etileno glicol éter, fenil éter e o mentol (ROUBACH; GOMES, 2001).

2.4. ANESTÉSICO MS-222

A tricaína metano sulfonato (TMS) conhecido como MS-222 de nomenclatura IUPAC metanossulfonato de 3-aminobenzoato de etila. É classificado como anestésico sintético de ação local (ROSS; ROSS, 2008). Caracterizado como pó branco e cristalino, é extremamente solúvel em água, este componente foi desenvolvido inicialmente como alternativa à cocaína (ROSS; ROSS, 2008). A tricaína diluída diretamente na água reduz o pH a valores entre 2.8 a 3.9 (OHR, 1976; VELASCO SANTA-MARIA et al., 2008). Em meio ácido pode causar distúrbios na manutenção das funções fisiológicas dos peixes (IWAMA, 1989). A aplicação do MS-222 sem a devida correção do pH pode causar lesões epidérmicas e na córnea de peixes (DAVIS et al., 2008).

Devido sua acidez se realiza a correção do pH pela adição de tampão (e.g. bicarbonato de sódio e hidróxido de sódio) (CONCEA, 2015). A aplicação de agente tampão pode prevenir a acidose metabólica em peixes (SNEDDON, 2012). Em pH maior que 7 resultou em menor tempo de indução e recuperação dos peixes anestesiados (OHR, 1976; SMIT et al., 1979).

Considerado o anestésico mais difundido no mundo, sendo o único liberado para aplicação em peixes destinados ao consumo humano (FDA, 2017). A regulamentação interna em países como Reino Unido, Estados Unidos da América, Noruega, Filipinas e Nova Zelândia permitem o uso de MS-222, com restrições que variam entre 10 a 80 dias de depuração após aplicação deste fármaco (ROSS; ROSS, 2008).

Advertência quanto à segurança ao manipulador implicou na toxicidade à retina e irritação nas mucosas do trato respiratório, sendo indicado o uso de equipamento de proteção individual (e.g. máscara, luvas e óculos de proteção) (BERSTEIN et al., 1997).

Quando aplicados em peixes por banho de imersão o MS-222 atuou diretamente sobre o sistema nervoso central em junções neuromusculares e nas sinapses ganglionares que impediu a geração e condução de impulsos nervosos (TREVES-BROWN, 2000). Promoveu a inibição da entrada de sódio (Na^+) nos nervos limitando a sua excitabilidade (BUTTERWORTH; STRICHARTZ, 1990; BURKA et al., 1997).

A principal via de absorção de MS-222 é a brânquia e em peles bem vascularizadas (McFARLAND, 1959; HUNN; ALLEN 1974). Uma vez dentro do corpo é rapidamente distribuída e metabolizada por reações de acetilação e excretado (BURKA et al., 1997). As principais vias de excreção são os rins e as brânquias (WAYSON et al., 1976). Em peixes, os níveis de MS-222 se tornaram indetectáveis na corrente sanguínea após 8h e na urina após

24h (HUNN; ALLEN, 1974; OHR 1976; WAYSON et al. 1976; BURKA et al.1997; ROSS; ROSS, 2008).

O MS-222 e o óleo de cravo foram eficientes na redução do estresse, após os peixes serem submetidos à coleta de sangue por punção caudal, apresentaram níveis plasmáticos de cortisol significativamente menores em comparação ao grupo controle (WAGNER et al., 2003). Barbas et al. (2017) não observaram efeitos da capacidade do MS-222 em promover o estresse oxidativo em tecidos de juvenis tambaqui durante o período de transporte.

Além disso, não foram observadas evidências de ação mutagênica (YOSHIMURA et al., 1981). Sem efeitos deletérios sobre o DNA em peixes (BARRETO et al., 2007). Não alterou as taxas de biotransformação no fígado de truta arco-íris *Oncorhynchus mykiss* (KOLANCZYK, 2003).

Quanto às alterações fisiológicas em peixes foram encontrados os efeitos de hipóxia, hipercapnia, acidose respiratória e hiperglicemia associados ao uso de MS-222 (HIKASA et al., 1986; SLADKY, 2001; ROUBACH, 2001; ROSS; ROSS, 2008). Em contrapartida, o MS-222 foi considerado um anestésico seguro para muitos peixes, mas as concentrações efetivas podem variar dependendo da espécie, tamanho e qualidade da água (TOPIC POPOVIC et al., 2012).

Entre as desvantagens do uso de MS-222 consistem no alto custo e baixa disponibilidade no mercado (GULLIAN; VILLANUEVA, 2009; GOMES et al., 2001). O custo de 100g de MS-222 corresponde a 365,5 € euros (SIGMA-ALDRICH, 2017).

Vários trabalhos foram publicados com uso do MS-222 para as espécies nativas e de importância na piscicultura no Brasil (Anexo I). Foram encontrados ao todo vinte e seis manuscritos com a avaliação da concentração ideal, com nove abordando a fase adulta, dezenove a fase juvenil e dois a fase larval e alevino segundo os critérios de classificação dos autores.

Os peixes ornamentais apresentaram concentrações indicadas para a anestesia de manejo entre 140 a 200 mg L⁻¹ para kinguio *Carassius auratus* (KÜÇÜK; ÇOBAN, 2016), guppy *Poecilia vivípara* (BOLASINA et al., 2017), acará bandeira *Pterophyllum scalare* (MITJANA et al., 2014) e paulistinha *Danio rerio* (NORDGREN et al., 2014); a exceção do platy *Xiphophorus maculatus* (GUO et al., 1995), em que a concentração indicada foi de 30 mg L⁻¹ no transporte.

Os peixes marinhos nas concentrações entre 60 a 75 mg L⁻¹ para os juvenis de bacalhau *Gadus morhua* (MATTSON; RIPLE, 1989), a tainha olhalvo *Mugil cephalus*

(SYLVESTER, 1975) e o beijupirá *Rachycentron canadum* (GULLIAN e VILLANUEVA, 2009).

Os peixes de água doce, exceto os ornamentais, apresentaram concentrações efetivas variando de 20 a 300 mg L⁻¹, sendo que a menor concentração de 20 mg L⁻¹ indicada pelo método de irrigação nas brânquias em carpa comum *Cyprinus carpio* (TAKEDA et al., 1987), os demais pelo método de banho anestésico. Os adultos de tilápia do Nilo *Oreochromis niloticus* apresentaram concentrações efetivas entre 100-200 mg L⁻¹, e para os juvenis da mesma espécie as concentrações variaram de 60-70 mg L⁻¹ (ROSS; GEDDES, 1979). Para os adultos de truta *Oncorhynchus sp.* foi indicada a concentração de 100 mg L⁻¹ (SOIVIO et al., 1977), e os juvenis entre 50-60 mg L⁻¹ (CHO; HEATH, 2000; WAGNER et al., 2003).

Concentrações efetivas para os juvenis de pacamã *Lophiosilurus alexandri* de 280 mg L⁻¹ (RIBEIRO et al., 2013), juvenis e adultos de jundiá *Rhamdia quelen* de 300 mg L⁻¹ (GRESSLER et al., 2012), adultos de carpa comum *C. carpio* de 200 mg L⁻¹ (HIKASA et al., 1986) e os juvenis de matrinxã *Brycon cephalus* de 150 mg L⁻¹ (ROUBACH et al., 2001). As concentrações entre 75 a 100 mg L⁻¹ indicadas para juvenis de pirarucu *Arapaima gigas* (HINOSTROZA e SERRANO-MARTINEZ, 2013); juvenis e adultos de lambari do rabo amarelo *Astyanax altiparanae* (OSTRENSKY et al. 2015); juvenis de bagre americano *Ictalurus punctatus* (SMALL, 2003; WELKER et al., 2007) e adultos de carpa capim *Ctenopharyngodon idella* (SCHRAMM e BLACK, 1984).

2.5. ANESTÉSICO BENZOCAÍNA

A benzocaína de nomenclatura IUPAC 4-aminobenzoato de etila está intimamente relacionada com o MS-222, ambos derivados de ácido para-aminobenzóico (PABA). Caracterizado como pó branco, cristalino e inodoro, a benzocaína pura não é solúvel em água, sendo necessária a diluição em etanol ou acetona (BURKA et al., 1997; ROSS; ROSS, 2008).

Considerado um dos anestésicos mais utilizados no Brasil, pela facilidade de aquisição, boa margem de segurança e menor custo (ROUBACH; GOMES et al., 2001; GOMES et al., 2001; FAÇANHA; GOMES, 2005; FABIANI et al, 2013). A cotação de 100g de benzocaína foi de 62,5 € euros (SIGMA-ALDRICH, 2017). Howe et al. (1990) descreveram técnicas práticas para remoção de benzocaína de efluentes agrícolas utilizando filtros de carbono ativado, minimizando a contaminação do meio. Não houve relatos de toxicidade em mamíferos com as dosagens de benzocaína utilizadas em peixes (ALLEN, 1988; BURKA et al., 1997).

A benzocaína quando diluída na água apresentou solução neutra, diferentemente do MS-222 que torna o meio ácido, mas este último tamponado conferiu pH similar (ROSS; ROSS, 2008). O efeito da variação de pH e dureza da água não afetaram significativamente a eficácia da benzocaína (IVERSEN et al., 2003). Este anestésico apresentou uma boa margem de segurança para os peixes, embora em altas temperaturas houve redução do tempo de indução (MEINERTZ, 1999; ROSS; ROSS, 2008).

Sorum; Damsgard (2004) consideraram que a anestesia com a benzocaína teve efeito insignificante no desempenho do Salmão do Atlântico *Salmo salar*. A anestesia com a benzocaína não apresentou nenhuma disfunção no crescimento e na capacidade reprodutiva dos peixes (ROSS; ROSS, 2008; GIMBO, 2008).

Allen (1988) mostrou que as concentrações deste fármaco nos tecidos caem a níveis indetectáveis em até 24 horas em truta arco-íris *Oncorhynchus mykiss* e achigã *Micropterus salmoides*. A benzocaína foi considerada um anestésico eficaz para os peixes quando submetidos ao banho, uma vez absorvida se distribui por todo corpo, podendo ser metabolizada por acetilação e hidrólise, a excreção ocorreu através das brânquias e na urina, contudo a deposição nos tecidos pode ocorrer em exposições prolongadas do fármaco (MEINERTZ, 1996). Em banho anestésico de benzocaína no bagre americano *Ictalurus punctatus* durante 35 min de exposição foram detectados por meio de radiocarbono a presença do fármaco na bile, rins, plasma, pele e músculo. (HAYTON, 1996). A benzocaína não apresentou ação mutagênica em tilápia-do-Nilo *Oreochromis niloticus* (GONTIJO et al., 2003). Anestesia com a benzocaína e o MS-222 não causaram danos oxidativos nas brânquias, fígado e cérebro de juvenis de tambaqui *Colossoma macropomum* durante a recuperação em até 24h (STRINGHETTA et al., 2017).

Zahl et al. (2012) demonstraram que o mecanismo de ação da benzocaína promoveu o bloqueio dos canais de sódio (Na^+), similar ao MS-222, atuando no bloqueio dos neurônios, glândulas e células musculares (estriadas, cardíacas e lisas), os efeitos adversos incluem a depressão da função cardiovascular e respiratória e aumento dos níveis de catecolaminas e lactato.

Cortisol e glicose são amplamente reconhecidos como indicadores de estresse (SCHRECK, 1981; WENDELAAR-BONGA, 1997). Respostas agudas de estresse em abrótea *Urophycis brasiliensis*, peixe marinho, capturados por rede de arrasto e anestesiados com benzocaína foram revertidas em até duas semanas (BOLASINA, 2006). Níveis plasmáticos de

cortisol e glicose foram significativamente menores nos grupos anestesiados com benzocaína que o grupo controle testados em *Carassius carassius* (HEO; SHIN, 2010).

Diversos trabalhos têm sido realizados em espécies neotropicais com a utilização da benzocaína, como o de Gimbo et al. (2008), que indicaram a concentração de 100 mg L⁻¹ de benzocaína como ideal para indução anestésica do lambari-do-rabo-amarelo (*Astyanax altiparanae*), no entanto, apresentaram mortalidade posterior ao experimento na concentração de 125 mgL⁻¹. A mesma concentração foi eficiente para a anestesia de juvenis de piraputanga (*Brycon hilarii*), em trabalhos de Fabiani et al. (2013), com 1,3 min para indução e 3,15 min para recuperação.

Gomes et al. (2001) relataram ótimas concentrações na faixa de 100-150 mgL⁻¹ de benzocaina aplicadas na anestesia de juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum*), mas, em concentrações de 350 mgL⁻¹ exibiram 30% de mortalidade. Os níveis de glicose plasmática aumentaram significativamente quando os peixes foram expostos a 200 mgL⁻¹. A aspersão da benzocaína nas brânquias do pirarucu foi eficiente para a indução à anestesia (HONCZARYK; INOUE, 2010).

Vários trabalhos foram publicados com uso da benzocaína para as espécies nativas e de importância na piscicultura no Brasil (Anexo II). Foram encontrados ao todo vinte e quatro manuscritos com a avaliação da concentração ideal, com três abordando a fase adulta, dezenove a fase juvenil e quatro de alevino, segundo os critérios de classificação dos autores.

Os peixes ornamentais apresentaram concentrações indicadas para a anestesia entre 87,5 a 100 mg L⁻¹ para juvenis de kinguio *C. auratus* (BITTENCOURT, 2012) e carpa ornamental *Carassius carassius* (HEO; SHIN, 2010), a exceção do guppy *P. vivipara* que foi indicada a concentração de 200 mg L⁻¹ em adultos (BOLASINA et al., 2017).

Os peixes marinhos apresentaram concentrações adequadas entre 40 a 75 mg L⁻¹ para o robalo peva *Centropomus parallelus* (SOUZA, et al., 2012), bacalhau *Gadus morhua* (ROSS; ROSS, 2008) e o pampo *Trachinotus marginatus* aplicados em sua maioria na fase de juvenis (OKAMOTO et al., 2009).

Os peixes de água doce, exceto os ornamentais, as concentrações variaram de 20 a 200 mg L⁻¹, sendo as menores concentrações de 20 e 25 mg L⁻¹ foram indicadas para o transporte de tilápia sp., a anestesia em pirarucu *A. gigas* foi realizada por aspersão nas brânquias e as concentrações efetivas em juvenil foram de 50-100 mg L⁻¹ (HONCZARYK; INOUE, 2010), método por injeção intraperitoneal realizado em truta arco-íris *O. mykiss* indicaram que a concentração de 50 mg L⁻¹ foi a adequada para a espécie (OSWALD, 1978). Os adultos e

juvenis de tilápia do Nilo *Oreochromis niloticus* foram indicadas as concentrações de 190 mg L⁻¹ (OKAMURA et al., 2010) e os alevinos da mesma espécie as concentrações de 100 mg L⁻¹ (ROSS e GEDDES, 1979).

As concentrações indicadas para os juvenis de curimatã *Prochilodus lineatus* de 100-200 mg L⁻¹ (PARMA-de-CROUX, 1990), juvenis de mandi pintado *Pimelodus britskii* de 200 mg L⁻¹ (BERTOZI JÚNIOR et al., 2014), alevinos e juvenis de pirapitinga *Piaractus brachypomus* de 150 mg L⁻¹ (VELASCO-SANTAMARIA, et al. 2008) e patinga *Piaractus mesopotamicus* x *Piaractus brachypomus* de 150 mg L⁻¹ (RODRIGUES et al., 2016). Concentrações que variaram entre 87,5 a 100 mg L⁻¹ foram indicadas para juvenis de lambari do rabo amarelo *A. altiparanae* (GIMBO et al., 2008); piraputanga *Brycon hilarii* (FABIANI et al., 2013); tambaqui *Colossoma macropomum* (GOMES et al., 2001; ROUBACH et al., 2005) e carpa comum *C. carpio* (BITTENCOURT et al., 2013).

2.6. ANESTÉSICO ÓLEO DE CRAVO

O óleo de cravo é uma substância da classe dos fenilpropanóides, um líquido amarelo claro, pouco solúvel em água e solúvel em solventes orgânicos (e.g. álcool), é extraído a partir da destilação das folhas, caules e flores do cravo-da-índia *Syzygium aromaticum*, que contém cerca de 70 a 90% de eugenol (CONCEA, 2015).

Os principais componentes do óleo de cravo são o eugenol de nomenclatura IUPAC 4-alil-2-metoxifenol e o isoeugenol (4-propenil-2-metoxifenol). Apresenta a vantagem de induzir rapidamente à anestesia (WOODY et al., 2002; HAJEK et al., 2006). Além disso, o óleo de cravo demonstrou atividade antiviral (SIDDIQUI, 1996), bactericida (STECCHINI et al., 1993; OLIVEIRA; ABREU FILHO, 2012) e fungicida (KARAPINAR, 1990).

Diversos trabalhos apresentaram eficácia e boa margem de segurança atribuída com a utilização do óleo de cravo, sem ação mutagênica, com potenciais antioxidantes e anticancerígenos (MAURA et al., 1989; NAGABABU; LAKSHMAIAH, 1992; ZHENG et al., 1992; ANDERSON et al., 1997; KEENE et al., 1998; WATERSTRAT, 1999; STONE, 1999; KILDEA et al., 2004).

Considerado um fármaco sem propriedades tóxicas aparentes (MUNDAY; WILSON, 1997; SLADKY et al., 2001; WOODY et al., 2002), possui baixo custo e fácil aquisição (INOUE et al., 2003; ROSS; ROSS, 2008). A cotação de 1 kg de óleo cravo foi de 86,00 € euros, portanto, 8,6 € euros para 100 g (SIGMA-ALDRICH, 2017). Considerado seguro para o meio ambiente (IVERSEN et al., 2003) comumente empregado como um analgésico tópico

para anestesia local na odontologia (SOTO; BURHANUDDIN, 1995; DAVIDSON et al., 2000; INOUE et al., 2003).

O fármaco foi excretado principalmente via urina em até 24 horas em seres humanos (FISCHER, 1990). Nos peixes o fármaco foi reduzido a níveis indetectáveis em dois dias após sua aplicação (SLADKY et al., 2001, WOODY et al., 2002; KILDEA et al., 2004). Liu e Gibson (1977) consideraram o eugenol seguro para o uso em laboratório.

Este fármaco pode ser aplicado nas diversas áreas da piscicultura para imobilizar o peixe durante o manejo, triagem, marcação, procedimentos de reprodução artificial e cirúrgica. Atuou suprimindo o sistema sensorial durante os processos invasivos (JAVAHERY et al., 2012).

Os peixes apresentaram reação de hiperatividade ao primeiro contato com o óleo de cravo, que diminuiu à medida que o efeito do fármaco se intensificava (GRUSH et al., 2004; VIDAL et al., 2007a). Segundo Mylonas et al. (2005) a hiperatividade está relacionada ao próprio fármaco do que o efeito direto do diluente (e.g. álcool) observados em dourado *Sparus aurata* e robalo europeu *Dicentrarchus labrax*.

Embora classificado como um anestésico local, o óleo de cravo foi absorvido principalmente pelas brânquias em banho anestésico, uma vez nas brânquias o anestésico penetra no epitélio branquial e entra na corrente sanguínea, sendo distribuído por todo o corpo (JAVAHERY et al., 2012). Summerfelt e Smith (1990) consideraram o óleo de cravo altamente lipofílico e, portanto, absorvido pelos tecidos do corpo, como no tecido adiposo e no cérebro. Embora a perda de função nervosa não esteja bem documentada em peixes, mudanças de comportamento previsíveis durante a indução de anestesia foram documentadas e usadas para avaliar os níveis de anestesia (McFARLAND, 1959; SUMMERFELT; SMITH, 1990; ROSS; ROSS, 2008; JAVAHERY et al., 2012).

As respostas de estresse fisiológico foram avaliadas em juvenis de salmão *Oncorhynchus tshawytscha* demonstrando que as diferenças entre o MS-222 e o óleo de cravo não foram significativas para a maioria dos parâmetros fisiológicos avaliados, contudo, o óleo de cravo foi considerado como alternativa segura e econômica para a tricaína na redução do estresse em peixes (CHO; HEATH, 2000).

As propriedades do óleo de cravo serviram para o fomento do anestésico comercial, denominado AQUI-S, pela *Seafood Research Laboratory*, na Nova Zelândia (ROSS; ROSS, 2008). O AQUI-S contém 50% de isoeugenol (2-metoxi-4 propenilfenol) e 50% de

polisorbato 80. Tanto AQUI-S quanto o óleo de cravo são considerados seguros (GRAS) pela *Food and Drug Administration* (FDA, 2017)

Um dos primeiros trabalhos com uso de óleo de cravo aplicados em peixe foram descritos por Endo et al. (1972) que mostraram ser eficaz na indução de *Cyprinus carpio* e *Carassius auratus*. O óleo de cravo foi estudado como anestésico eficaz em peixes ornamentais e várias espécies de peixes de clima quente e frio (WAGNER et al., 2003; HOLLOWAY et al., 2004; VELISEK; SVOBODOVA, 2004; HAJEK et al., 2006; GOMULKA et al., 2008).

Vários trabalhos foram publicados com uso do óleo de cravo para as espécies nativas e de importância na piscicultura no Brasil (Anexo III). Foram encontrados ao todo cinquenta manuscritos com a avaliação da concentração ideal, com oito abordando a fase adulta, quarenta e um a fase juvenil e seis de alevino, segundo os critérios de classificação dos autores.

Os peixes ornamentais apresentaram concentrações indicadas para a anestesia entre 80 a 100 mg L⁻¹ para adultos de guppy *P. vivípara* (BOLASINA et al., 2017) e juvenis de acará bandeira *P. scalare* (MITJANA et al., 2014), espadinha *Xiphophorus helleri* (VARTAK et al., 2002) e platy *X. maculatus* (HOSHIBA et al., 2015), a menor concentração de 50 mg L⁻¹ foi indicada para juvenis de kinguio *C. auratus* (ENDO et al., 1972; BITTENCOURT et al., 2012).

Os peixes marinhos apresentaram concentrações adequadas variando entre 20 e 50 mg L⁻¹ para juvenis de robalo peva *Centropomus parallelus* (SOUZA et al., 2012); robalo flecha *Centropomus undecimalis* (BERNARDES JUNIOR et al., 2013); beijupirá *R. canadum* (GULLIAN; VILLANUEVA, 2009) e pampo *Trachinotus marginatus* (OKAMOTO et al., 2009). Para todas as classes de desenvolvimento de ariacó *Lutjanus synagris* foram indicadas a mesma concentração de 50 mg L⁻¹ (SOUZA et al., 2015). A concentração indicada para garoupa *Epinephelus bruneus* variou entre 50 a 250 mg L⁻¹, sendo que a menor concentração para temperatura de 26°C e a maior na temperatura de 18°C (PARK et al., 2008).

Para os peixes de água doce, exceto os ornamentais, as concentrações variaram de 5 a 250 mg L⁻¹, sendo que a menor concentração de 5 mg L⁻¹ foi indicada para o transporte de tilápia do Nilo *O. niloticus* (OLIVEIRA et al., 2009) e a matrinxã *Brycon cephalus* (INOUE et al., 2005). As anestésias por aspersão em brânquias foram realizadas no pirarucu *A. gigas* (HONCZARYK e INOUE, 2009) e na truta *O. mykiss* (PRINCE e POWELL, 2000), sendo indicadas as concentrações entre 30-60 mg L⁻¹. Concentrações entre 75 a 250 mg L⁻¹ entre as classes de desenvolvimento de tilápia do Nilo *O. niloticus* (VIDAL et al., 2008; SIMÕES et

al., 2010; DELBON; PAIVA, 2012; SIMÕES et al., 2012; MOREIRA et al., 2015). Concentrações entre 30 a 120 mg L⁻¹ entre as classes de desenvolvimento de truta arco-íris *O. mykiss* (ANDERSON et al., 1997; KEENE et al., 1998; VELISEK et al., 2005a). Concentrações entre 30 a 240 mg L⁻¹ entre as classes de desenvolvimento de pacu *Piaractus mesopotamicus* (GONÇALVES et al., 2008; RIBEIRO et al., 2010; ROTILI et al., 2012; SANCHEZ et al., 2014a). Concentrações que variaram entre 100 a 150 mg L⁻¹ indicadas para juvenil de piraputanga *Brycon hilarii* (FABIANI et al., 2013); adultos de carpa comum *Cyprinus carpio* (HIKASA et al., 1986); juvenis de pacamã *Lophiosilurus alexandri* (RIBEIRO et al., 2013) e juvenis de cachara *Pseudoplatystoma reticulatum* (SANCHEZ et al., 2014b). Baixas concentrações, entre 20 a 70 mg L⁻¹, foram indicadas para juvenis de matrinxã *Brycon amazonicus* (BARBOSA et al., 2007); tambaqui *Colossoma macropomum* (ROUBACH et al., 2005; INOUE et al., 2011); carpa comum *Cyprinus carpio* (VELISEK et al., 2005b; HAJEK et al., 2006; BITTENCOURT et al., 2013); piavuçu *Leporinus macrocephalus* (VIDAL et al., 2007a); mandi pintado *Pimelodus britskii* (BERTOZI JÚNIOR et al., 2014); dourado *Salminus brasiliensis* (HISANO et al., 2008) e alevinos de lambari do rabo amarelo *Astyanax altiparanae* (PEREIRA-da-SILVA et al., 2009).

2.7. ANESTÉSICO MENTOL

O mentol de nomenclatura IUPAC 2-isopropil-5-metil-ciclo-hexanol, pertence à classe de monoterpeno de um grupo estruturalmente diversificado de fitoquímicos encontrados em óleos essenciais derivados de plantas do gênero *Mentha* (OZ et al., 2017). O mentol é uma substância incolor de cristais hexagonais e odor característico, considerado um dos aromatizantes mais importantes além da baunilha e os citros. Em temperatura ambiente é sólido e ponto de fusão 41-44°C, altamente hidrofóbico, solúvel em adição de clorofórmio, éter etílico ou etanol (OZ et al., 2017). O mentol é um composto que ocorre naturalmente e possui três centros quirais que definem oito estereoisômeros opticamente ativos.

Amplamente utilizado em produtos farmacêuticos, alimentícios, higiene bucal, pesticidas, cosméticos, tabaco e como agente aromatizante (OZ et al., 2017). No Japão há mais de 2.000 anos a planta de hortelã-pimenta *Mentha piperita* foi cultivada para fins medicinais (PATEL et al., 2007). Kamatou et al. (2013) descreveram a demanda de consumo mundial de mentol seja de 30 a 32 mil toneladas anualmente. A cotação de 100 g de mentol foi de 39,40 € euros (SIGMA-ALDRICH, 2017).

Na medicina foram prescritos para o tratamento de doenças respiratórias, distúrbios gastrointestinais, resfriado e dor muscular, portanto, utilizado como ingrediente em formulações de analgésicos, antibacterianos, antifúngicos, antipruríticos, anticancerígenos e antiinflamatórios (NCI, 1979; JUERGENS et al., 1998; LORENZO et al., 2002; GALEOTTI et al., 2002; SABZGHABAEI, 2006; KOGA et al., 2009; DAMBOLENA et al., 2010; WANG, et al., 2012).

Em humanos as principais vias de eliminação foram realizadas em processo de glicuronidação e posteriormente os metabolitos excretados via urina e menor quantidade nas fezes (KAFFENBERGER; DOYLE, 1990; OECD, 2003). Clarke et al. (1991) consideraram o sistema de glicuronidação em peixes qualitativamente semelhante a mamíferos, regulado por mediadores xenobióticos e endógenos. Kamatou et al. (2013) relataram que o mecanismo pelo qual o mentol exerce sua atividade *in vitro* ou *in vivo* ainda é pouco conhecido. Para Kasai et al. (2014) apesar da utilização do mentol desde a antiguidade os mecanismos farmacológicos permanecem relativamente desconhecidos. Os mesmos autores demonstraram que o mentol pode desempenhar um papel na indução da anestesia cirúrgica em peixes, relacionados à modulação de receptores GABA_A e de movimento rápido possivelmente através de nociceptores térmicos. O mentol compartilhou ação anestésica geral similar ao propofol, em ação na modulação GABAérgicos (WATT et al., 2008).

Em carpa comum *Cyprinus carpio* não houve potencial de bioacumulação significativo de mentol, a variação encontrada nos resultados foi explicada pelo teor de lípidios nos peixes (2 a 6%) (OECD, 2003). Botrel et al. (2017) determinaram o período residual de 48h necessário para a metabolização total do mentol nos tecidos de filé de tilápia do Nilo *O. niloticus*. Não houve relatos sobre alterações nas propriedades organolépticas do pescado (GONÇALVES et al., 2008). Carvalho et al. (2015) sugeriram que o mentol tem um efeito antiagressivo em betas *Betta splendens*, mas este efeito pareceu depender de uma diminuição da atividade motora.

O mentol apresentou potencial efeito antiparasitário em estudos *in vitro*, contudo não demonstrou eficiência no controle de *Dawestrema spp.* (*Monogenea*) nas brânquias de Pirarucu *Arapaima gigas* e altas concentrações de mentol promoveram fusões das lamelas, aneurisma, hipertrofia e até necrose nas brânquias (MALHEIROS et al., 2016). A concentração de 40 mg L⁻¹ foi eficaz para o tratamento de parasitas em tilápia do Nilo sem causar alterações hematológicas (HASHIMOTO et al. 2016).

Foram verificadas propriedades anestésicas com uso de mentol em invertebrados marinhos e peixes (RUPPERT; BARNES, 1996; YAMANA et al., 2005; MANUSH; PAL, 2009; KASAI, 2014). O mentol foi um anestésico efetivo e seguro para a anestesia do lambari do rabo amarelo *Astyanax altiparanae* atenuando as respostas ao estresse, contudo altas concentrações e contínua exposição ao fármaco resultaram em elevadas taxas de mortalidade (PEREIRA da SILVA et al., 2014).

A anestesia em juvenis de tilápia do Nilo *O. niloticus* com mentol não promoveu diferenças significativas dos níveis de hematócrito, contudo, foram observados aumento dos níveis de glicose, sendo considerado um estressor agudo (SIMOES; GOMES, 2009). O aumento dos níveis de glicose ocorreram logo após exposição ao mentol e seu retorno à níveis basais em 12 horas em Pacu *Piaractus mesopotamicus* (SANCHEZ et al., 2014a). A concentração ideal de mentol não causou distúrbios fisiológicos de glicose plasmática e no Na^+ plasmático, porém, ocorreu distúrbio no K^+ plasmático em tambaqui *Colossoma macropomum* (FACANHA; GOMES, 2005).

A quantidade de mentol necessária para anestésiar juvenis de robalo peva *Centropomus parallelus* foi superior em relação aos anestésicos benzocaína e óleo de cravo (SOUZA et al., 2012). Para o dourado *Salminus brasiliensis*, a concentração ideal para a anestesia com mentol foi de 60 mg L^{-1} , considerando o menor custo e adequada resposta de indução e recuperação (PÁDUA et al., 2010). Em juvenis de tilápias nilótica a anestesia com a concentração de 125 mg L^{-1} foi adequada para fins de manejo (MELLO et al., 2012).

Vários trabalhos foram publicados com uso do mentol para as espécies nativas e de importância na piscicultura no Brasil (Anexo IV). Foram encontrados ao todo quatorze manuscritos com avaliação da concentração ideal, com um abordando a fase adulta, treze a fase juvenil e três de alevino, segundo os critérios de classificação dos autores.

O peixe ornamental platy *X. maculatus* apresentou a concentração ideal de 100 mg L^{-1} para a anestesia (HOSHIBA et al., 2015). Para o transporte de robalo peva *C. parallelus* foram indicadas as concentrações entre 37 a 50 mg L^{-1} (SEPULCHRO et al., 2016) e para a anestesia de manejo a concentração de 150 mg L^{-1} , ambos aplicados em juvenis (SOUZA et al., 2012).

Para os peixes de água doce, exceto os ornamentais, as concentrações variaram de 20 a 512 mg L^{-1} , sendo que a menor concentração de 20 mg L^{-1} foi indicada para o transporte de alevinos de tilápia do Nilo *O. niloticus* (NAVARRO et al., 2016). A anestesia em alevinos apresentaram-se concentrações de 50 - 60 mg L^{-1} aplicados em tilápia do Nilo *O. niloticus*.

(TEIXEIRA et al., 2011) e lambari do rabo amarelo *A. altiparanae* (PEREIRA-da-SILVA et al., 2014). A concentração de 240 mg L⁻¹ do anestésico foi indicada para adultos de tilápia do Nilo (TEIXEIRA et al., 2011). No geral, as concentrações variaram entre 100 e 150 mg L⁻¹ para juvenis de tambaqui *C. macropomum* (FAÇANHA; GOMES, 2005), pacu *P. mesopotamicus* (GONCALVES et al., 2008; SANCHEZ et al., 2014a), cachara *P. reticulatum* (SANCHEZ et al., 2014b), carpa comum *C. carpio* (MAZANDARANI; HOSEINI, 2016) e tilápia do Nilo *O. niloticus* (SIMÕES; GOMES, 2009; MELLO et al., 2012).

2.8. FATORES QUE INFLUENCIAM A EFICÁCIA DOS ANESTÉSICOS

A eficácia dos anestésicos são condicionadas por fatores ambientais (temperatura, pH, salinidade e oxigênio) e fatores biológicos (sanidade, estado nutricional, tamanho, peso, teor de lipídios, espécies de peixes e fase de desenvolvimento) (McFARLAND, 1959; HIKASA et al., 1986; BURKA et al., 1997; KEENE et al., 1998; IWAMA et al., 1999; ROSS; ROSS, 2008; BERTOZI-JUNIOR et al., 2014).

O aumento da temperatura da água promoveu efeito significativo na anestesia, reduzindo o tempo de indução e recuperação (ENDO et al., 1972; SYLVESTER, 1975; HIKASA et al., 1986; MEINERTZ et al., 1999; GOMES et al., 2001; WALSH; PEASE, 2002; HOSKONEN; PIRHONEN, 2004; WOOLSEY et al., 2004; PARK et al., 2008; GOMES et al., 2011). O mecanismo de ação associado foi descrito pelo aumento da taxa metabólica dos peixes, com aumento da temperatura durante a absorção e eliminação dos anestésicos (HOSKONEN; PIRHONEN, 2004; ZAHL et al., 2009).

ROSS; ROSS (2008) descobriram que o pH de uma solução anestésica influencia na eficácia dos processos de dissolução das moléculas. O pH maior que 7 resultou em menor tempo de indução e recuperação com a aplicação de MS-222 (OHR, 1976; SMIT et al., 1979). O pH da água não afetou significativamente a eficácia da benzocaína (IVERSEN et al., 2003). Contudo, o pH influenciou significativamente o tempo de indução com uso de óleo de cravo e ocorreram induções rápidas em pH neutro (GHAZILOU et al., 2010).

Ghazilou et al. (2010) observaram correlação positiva entre a salinidade e as concentrações de óleo de cravo e o tempo de indução em salmão do mar Cáspio *Salmo trutta caspius*, contudo, nenhuma relação entre a salinidade e o tempo de recuperação. Sepulchro et al. (2016) não observaram o efeito da salinidade com o anestésico mentol aplicados em robalo

peva *Centropomus parallelus* (peixe estuarino) e atribuíram à sua fisiologia pela tolerância à variação de salinidade.

Quanto à sanidade, os peixes doentes ou desovados podem ser suscetíveis ao tratamento anestésico (ROSS; ROSS, 2008). Schoettger; Steuke (1970) demonstraram que após a desova de lúcio *Esox lucius* e o sander *Stizostedion vitreum* foram mais suscetíveis ao MS-222.

O efeito da classe de tamanho ou peso foi avaliado em diversos trabalhos e apresentaram correlação positiva com a concentração de anestésico (GILDERHUS et al., 1989; ANTUNES et al., 2008; RIBEIRO et al., 2013; ROTILI et al., 2012). Contudo, sem diferença significativa para a enguia *Anguilla reinhardtii* (WALSH; PEASE, 2002). Segundo os autores a espécie apresenta tolerância em condições ambientais adversas, sendo menos sensíveis que os salmonídeos.

A influência da classe de tamanho foi avaliada nos tempos de indução e os resultados obtidos foram controversos, alguns autores apontaram para correlação positiva (GILDERHUS et al., 1989; WOODY et al., 2002; RIBEIRO et al., 2013; SOUZA et al., 2015), outros sem correlação (OKAMURA et al., 2010; DIEMER et al., 2012). Resultados análogos entre as classes e os tempos de recuperação apresentaram correlação positiva (GILDERHUS et al., 1989; DIEMER et al., 2012), sem correlação (WOODY et al., 2002; OKAMURA et al., 2010; SOUZA et al., 2015), e correlação negativa (RIBEIRO et al., 2013). Hoskonen; Pirhonen (2004) consideraram que o tamanho ou peso do peixe não tem efeito unidirecional com o tempo de indução e recuperação, apresentando uma variação significativa entre as espécies.

Segundo Zahl et al. (2012) a relação entre o peso corporal e a sensibilidade aos anestésicos pode ser influenciada por várias características relacionadas ao peso corporal, idade, composição corporal, taxa de crescimento e maturidade sexual, pois todas essas características influenciam na fisiologia do peixe. Esta variação se aplica as diferenças morfológicas entre as mais de 30 mil espécies de peixes, que podem apresentar hábitos diferentes e consequentemente diferenças nas taxas metabólicas (ROSS; ROSS, 2008)

No geral, a área superficial branquial diminui em relação ao aumento do peso corporal (MUIR, 1969, OIKAWA; ITAZAWA, 1985). Associado a taxa metabólica basal que diminui em relação ao aumento do tamanho do corpo, consequentemente os peixes maiores apresentaram menor demanda de oxigênio em relação aos peixes menores (SCHMIDT-NIELSEN, 1984; CLARKE; JOHNSTON, 1999).

Desta forma, em fase de desenvolvimento avançado como em adultos ou reprodutores, apresentam maior conteúdo lipídico (tecido adiposo e gônadas) e metabolismo reduzido, portanto, a duração da anestesia pode ser prolongada e consequentemente a recuperação mais lenta à medida que o fármaco é removido lentamente das reservas lipídicas pelas brânquias ou dos rins (ZAHN et al., 2012). Segundo Rang et al. (2003) os agentes anestésicos são geralmente associados à alta solubilidade lipídica, que pode levar à acumulação de tecido adiposo tanto durante longas exposições e ou repetidas aplicações.

REFERÊNCIAS

- ABELHA, M. C. F.; KASHIWAQUI, E. A. L.; GOULART, E. Estrutura populacional, condição e dieta de *Oligosarcus paranensis* (Menezes & Gery, 1983) (Osteichthyes: *Characidae*) em dois reservatórios do sul do Brasil. **Biota Neotrop.**, vol.12, n.1, pp.187-197, 2012.
- ALLEN, J. L. Residues of benzocaine in Rainbow trout, Largemouth bass, and fish meal. **Prog Fish Cult** 50, 59–60, 1988.
- ANDERSON, W. G.; MCKINLY, R. S.; COLAVECCHIA, M. The use of clove oil as an anaesthetic for rainbow trout and its effects on swimming performance. **Nor Am J Fish Mang** 17:301–307, 1997.
- ANDRADE, D. R., SANTOS, A. A., MATTA, S. L. P. Estádios de maturação ovariana de lambari *Oligosarcus argenteus*. **Anais do Encontro Brasileiro de Ictiologia**, G3-G3, 1995.
- ANTUNES, M. I. P. P.; SPURIO, R. S.; GODOI, D. A.; GRUMADAS, C. E. S.; da ROCHA, M. A. Cloridrato de benzocaína na anestesia de carpas (*Cyprinus carpio*). **Sem Cie. Agr.**, 29,151-156, 2008.
- ARAÚJO, F. G., ANDRADE, C. C., SANTOS, R. N., SANTOS, A. F. G. N.; SANTOS, L. N. Spatial and seasonal changes in the diet of *Oligosarcus hepsetus* (Characiformes, *Characidae*) in a Brazilian Reservoir, Rio de Janeiro, Brazil. **Braz. J. Biol.** v. 65, n. 1, p.1-8, 2005.
- BARBAS, L. A. L.; PEREIRA-CARDONA, P. M.; MALTEZ, L. C.; GARCIA, L. O.; MONSERRAT, J. M.; SAMPAIO, L. A. Anaesthesia and transport of juvenile tambaqui *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818) with tricaine methane-sulphonate: Implications on secondary and oxidative stress responses. **J Appl Ichthyol.** p. 1–11, 2017.
- BARBOSA, L., G.; MORAES, G.; INOUE, L., A., K., A. Respostas metabólicas do matrinxã submetidos a banho anestésico de eugenol. **Acta Scientiarum Biological Scie**, v.29, p.255- 260, 2007.
- BARRETO, R. E.; GONTIJO, A. M. M. C.; ALVES de LIMA, R. O.; RAYMUNDI, V. C.; PINHAL, D.; REYES, V. A. V.; VOLPATO, G. L.; SALVADORI, D. M. F. MS222 does not induce primary DNA damage in fish. **Aquacult. Int.** 15, 163–168, 2007.
- BARROS, L. C.; SANTOS, U.; CIOFFI, M. B.; DERGAM, J. A. Evolutionary divergence among *Oligosarcus spp.* (Ostariophysi, *Characidae*) from the Sao Francisco and Doce River Basins: *Oligosarcus solitarius* Menezes, 1987 shows the highest rates of chromosomal evolution in the Neotropical Region. **Zebrafish**, v. 12, n.1, p. 102-110, 2015.
- BARTON, B. A. Salmonid fishes differ in their cortisol and glucose responses to handling and transport stress. **North American Journal of Aquaculture**, v. 62, n. 1, p. 12-18, 2000.

- BARTON, B. A.; IWAMA, G. K. Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of corticosteroids. **Annual Rev of Fish Diseases**, pp. 3-26, 1991.
- BERNARDES JÚNIOR, J. J.; NAKAGOME, F. K.; MELLO, G. L.; GARCIA, S.; AMARAL JÚNIOR, H. Eugenol as an anesthetic for juvenile common snook. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.48, n.8, p.1140-1144, 2013.
- BERSTEIN, P. S.; DIGRE, K. B.; CREEL, D. J. Retinal toxicity associated with occupational exposure to the fish anesthetic MS-222. **Amer J Ophthalmol** 124:834-843, 1997.
- BERTOZI JÚNIOR, M.; DIEMER, O.; NEU, D. H.; BITTENCOURT, F.; BOSCOLO, W. R.; FEIDEN, A. Benzocaína e eugenol como anestésicos para juvenis de *Pimelodus britskii* (mandipintado). **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 9, n. 1, p.134-138, 2014.
- BITTENCOURT, F.; SOUZA, B. E.; BOSCOLO, W. R.; RORATO, R. R.; FEIDEN, A.; NEU, D. H. Benzocaína e eugenol como anestésicos para o quinguio (*Carassius auratus*). **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec**, v. 64, n. 6, p. 1597-1602, 2012.
- BITTENCOURT, F.; SOUZA, B. E.; NEU, D. H.; RORATO, R. R.; BOSCOLO, W. R.; FEIDEN, A. Eugenol e benzocaína como anestésicos para juvenis de *Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758 (carpa comum). **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**. v.8, n.1, p.163-167, 2013.
- BOLASINA, S. N. Cortisol and hematological response in Brazilian codling, *Urophycis brasiliensis* (Pisces, Phycidae) subjected to anesthetic treatment. **Aquaculture Int.**, v.14, p.569-575, 2006.
- BOLASINA, S. N.; AZEVEDO, de A.; PETRY, A. C. Comparative efficacy of benzocaine, tricaine methanesulfonate and eugenol as anesthetic agents in the guppy *Poecilia vivipara*. **Aquaculture reports** 6, p. 56-60, 2017.
- BOSWORTH, B.G.; SMALL, B.C.; GREGORY, D.; KIM, J.; BLACK, S.; JERRETT, A. Effects of rested-harvest using the anesthetic AQUI-STM on channel catfish, *Ictalurus punctatus*, physiology and fillet quality. **Aquaculture**, v.262, p.302-318, 2007.
- BOTELHO, M. L. L. A., GOMIERO, L. M.; BRAGA, F. M. S. Feeding of *Oligosarcus hepsetus* (Cuvier, 1829) (Characiformes) in the Serra do Mar State Park – Santa Virgínia Unit, São Paulo, Brazil. **Braz. J. Biol.**, v. 67, n. 4, p. 741-748, 2007.
- BOTREL, B. M.; ABREU, D. C.; SACZK, A. A.; BAZANA, M. J.; COELHO S. M; E ROSA, P. V.; MAGRIOTIS, Z. M., de LIMA R. M. Residual determination of anesthetic menthol in fishes by SDME/GC-MS. **Food Chem.**, 229:674-679, 2017.
- BRESSLER, K.; RON, B. Effect of anesthetics on stress and the innate immune system of gilthead bream (*Sparus aurata*). **Israeli J Aquacult**, v. 56, p. 5-13, 2004.
- BURKA, J. F.; HAMMELL, K. L.; HORSBERG, T. E.; JOHNSON, G. R.; RAINNIE, D. J.; SPEARE, D. J. Drugs in salmonid aquaculture – a review. **J. Vet. Phar. Ther.**, v.20, p.333-349, 1997.
- BUTTERWORTH, J. F.; STRICHARTZ, G. R. Molecular mechanisms of local anesthesia: A review. **Anesthesiology** 72, 711-734, 1990.
- CARMASSI, A. L.; RONDINELI, G. R.; GOMIERO, L. M.; BRAGA, F. M. S. Growth and mortality of *Oligosarcus hepsetus* (Cuvier, 1829) (Characiformes, *Characidae*) in Serra do Mar State Park, Santa Virgínia Unit, São Paulo, Brazil. **Biota Neotrop.**, vol. 11, n. 2, p. 39-42, 2011.

- CARVALHO, P. D. P.; MAYER, P. C. M.; WALSH-MONTEIRO, A.; GOUVEIA-JR, A. Effects of Menthol on Aggressive Behavior in Siamese Fighting Fish (*Betta splendens*). **Psychology & Neuroscience**, vol. 8, No. 2, 290–296, 2015
- CHO, G.; HEATH, D. Comparison of tricaine methanesulphonate (MS222) and clove oil anaesthesia effects on the physiology of juvenile Chinook salmon *Oncorhynchus tshawytscha* (Walbaum). **Aquac Res** 31(6):537–546, 2000.
- CLARKE, A.; JOHNSTON, N. M. Scaling of metabolic rate with body mass and temperature in teleost fish. **J Anim Ecol** 68:893–905, 1999.
- CLARKE, D. J.; GEORGE, S. G.; BURCHELL, B. Glucuronidation in fish. **Aquat. Toxicol.** 20, 35–56, 1991.
- CONCEA – Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal. Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação (MCTI). **Normativas**, p. 329, 2015.
- CONTAN, J. L. V.; LANNA, E. A. T.; BOMFIM, M. A. D.; DONZELE, J. L.; RIBEIRO, F. B.; SERAFINI, M. A. Níveis de energia digestível e proteína bruta em rações para alevinos de lambari tambuí. **R. Bras. zootec**, v. 35, n. 3, 2006.
- COYLE, S. D.; DURBOROW, R. M.; TIDWELL, J. H. Anesthetics in Aquaculture. **SRAC**. United States Department of Agriculture, Cooperative State Research, Education, and Extension Service, Publication no. 3900, 2004.
- CROSBY, T. C.; HILL, J. E.; WATSON, C. A.; YANONG, R. P. E. Effects of tricaine methanesulfonate, Hypno, metomidate, quinaldine, and salt on plasma cortisol levels following acute stress in threespot gourami *Trichogaster trichopterus*. **J Aqua Anim Health**, v. 18, p. 58-63, 2006.
- CUNHA, M. A. da; ZEPPEFELD, C. C.; GARCIA, L. de O.; LORO, V. L.; FONSECA, M. B. da; EMANUELLI, T.; VEECK, A. P. de L.; COPATTI, C. E.; BALDISSEROTTO, B. Anesthesia of silver catfish with eugenol: time induction, cortisol response and sensory analysis of fillet. **Ciência Rural**, v.40, p.2107-2114, 2010.
- DAMBOLENA, J.S., LÓPEZ, A.G., RUBINSTEIN, H.R., ZYGADLO, J.A. Effects of menthol stereoisomers on the growth, sporulation and fumonisin B1 production of *Fusarium verticillioides*. **Food Chemistry** 123, 165–170, 2010.
- DAVIDSON, G. W.; DAVIE, P. S.; YOUNG, G.; FOWLER, R. T. Physiological responses of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* to crowding and anesthesia with AQUI-S™. **J World Aquaculture**, 31:105–114, 2000.
- DAVIS, K. B.; GRIFFIN, B. R. Physiological responses of hybrid striped bass under sedation by several anesthetics. **Aquacult**, 233:531-548, 2004.
- DAVIS, M. W.; STEPHENSON, J.; NOGA, E. J. The effect of tricaine on use of the fluorescein test for detecting skin and corneal ulcers in fish. **J. Aquat. Anim. Health** 20, 86–95, 2008.
- DELBON, M., C.; PAIVA, M., J., T. Eugenol em juvenis de tilápia do Nilo: concentrações e administrações sucessivas. **Boletim do Instituto de Pesca**, v.38, p.43-52, 2012.

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

ENDO, T.; OGIHIMA, K.; TANAKA, H.; OSHIMA, S. Studies on the anesthetic effect of eugenol in some freshwater fishes. **Bulletin of the Japanese Soc for the Scie of Fish**, v. 38, p. 761-767, 1972.

FABIANI, B. M.; BOSCOLO, W. R.; FEIDEN, A.; DIEMER, O.; BITTENCOURT, F.; NEU, D. H. Benzocaine and eugenol as anesthetics for Brycon hilarii. **Acta Scientiarum. An Sci**, v. 35, n. 2, 2013.

FAÇANHA, M. F.; GOMES, L. C. A eficácia do mentol como anestésico para tambaqui (*Colossoma macropomum*, Characiformes: *Characidae*). **Acta Amazonica**, v. 35, n.1, p. 71-75, 2005.

FAO. **The State of world Fisheries and Aquaculture**. Roma, p. 204, 2016.

FDA - Food and Drug Administration. Fish and fishery products hazards and controls guidance. **Aquaculture drugs**. Chapter 11. Disponível em: <http://www.fda.gov/downloads/Food/guidanceregulation/UCM252410.pdf>. Acesso em: 28 de dezembro de 2017.

FERREIRA, J. T.; SCHOONBEE, H. J.; SMIT, G. L. The uptake of the anaesthetic benzocaine hydrochloride by the gills and the skin of three freshwater fish species. **Journal of Fish Biology**, London, v.25, n.1, p.35-41, 1984.

FISCHER, I. U., UNRUH, G. E.; DENGLER, H. J. The metabolism of eugenol in man. **Xenobiotica** 20(2):209–222, 1990.

FREIRE, K. M. F; MACHADO, M. L.; CREPALDI, D. Overview of Inland Recreational Fisheries in Brazil, **Fisheries**, v. 37, n. 11, p. 484-494, 2012.

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

GHAZILOU, A.; HASANKANDI, H. S.; CHENARY, F.; NATEGHI, A.; HAGHI, N.; SAHRAEEAN, M.R. The anesthetic efficiency of clove oil in caspian salmon, *Salmo trutta caspius* k., smolts in dosage–salinity–pH linked approach. **Journal of the World Aquaculture Society**, vol. 41, no. 4, pp. 655-660, 2010.

GILDERHUS, P. A. Efficacy of benzocaine as an anesthetic for salmonid fishes. **North American Journal of Fisheries Management** 9: 150-153, 1989.

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*). **Rev. Bras. Saúde Prod. An.**, v.9, n. 2, p. 350-357, 2008.

GOMES, D. P.; CHAVES, B. W.; BECKER, A. G., BALDISSEROTTO, B. Water parameters affect anaesthesia induced by eugenol in silver catfish, *Rhamdia quelen*. **Aquac. Res.**, 42, 878-886, 2011.

GOMES, L. C.; CHIPPARI-GOMES, A. R.; LOPES, N. P.; ROUBACH, R.; ARAUJO-LIMA, C. A. R. M. Efficacy of Benzocaine as an Anesthetic in Juvenile Tambaqui *Colossoma macropomum*. **Journal of the world aquaculture society**, v. 32 (4), p. 426-431, 2001.

GOMULKA, P.; WLASOW, T.; VELISEK, J.; SVOBODOVA, Z.; CHMIELINSKA, E. Effects of eugenol and MS-222 anaesthesia on siberian sturgeon *Acipenser baerii* brandt. **Acta Vet Brno** 77:447–453, 2008.

- GONÇALVES, A. F. N.; SANTOS, E. C. C.; FERNANDES, J. B. K.; TAKAHASHI, L. S. Mentol e eugenol como substitutos da benzocaína na indução anestésica de juvenis de pacu. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, Maringá, v. 30, n. 3, p. 339-344, 2008.
- GONTIJO, A. M.; BARRETO R. E.; SPEIT, G.; VALENZUELA REYES, V. A.; VOLPATO, G. L.; FAVERO SALVADORI, D. M. Anesthesia of fish with benzocaína does not interfere with comet assays results. **Mutation Research**, v.534, p.165-172, 2003.
- GRESSLER, L. T.; PARODI, T. V.; RIFFEL, A. P. K.; DA COSTA, S. T.; BALDISSEROTTO, B. Immersion anaesthesia with tricaine methanesulfonate or propofol on different sizes and strains of silver catfish *Rhamdia quelen*. **Journal of Fish Biology** 81, 1436–1445, 2012.
- GRUSH, J.; NOAKES, D. L. G.; MOCCIA, R. D. The efficacy of clove oil as an anesthetic for the zebrafish, *Danio rerio* (Hamilton). **Zebrafish**, v.1, p.46-53, 2004.
- GULLIAN, M.; VILLANUEVA, J. Efficacy of tricaine methanesulphonate and clove oil as anaesthetics for juvenile cobia *Rachycentron canadum*. **Aquaculture Res**, v.40, p.852-860, 2009.
- GUO, F. C., TEO, L. H.; CHEN, T. W. Effects of anaesthetics on the water parameters in a simulated transport experiment of platyfish, *Xiphophorus maculatus* (Günther). **Aquac Res**, v.26, 265-271, 1995.
- 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, p.93-97, 2006.
- HARMS, C. A.; BAKAL, R. S. Techniques in fish anesthesia. **J Sm Exot Ani Med**, v.3,19-25, 1995.
- HASHIMOTO, G.S.O., NETO, F.M., RUIZ, M.L., ACCHILE, M., CHAGAS, E.C., CHAVES, F.C.M., MARTINS, M.L. Essential oils of *Lippia sidoides* and *Mentha piperita* against monogenean parasites and their influence on the hematology of Nile tilapia. **Aquaculture** 450 (182–186), 2016.
- HAYTON, W. L.; SZOKE, A.; KEMMENOE, B. H.; VICK, A. M. Disposition of benzocaine in channel catfish. **Aquatic Toxicology**, v.36, p.99-113, 1996.
- HEO, G. J.; SHIN, G. Efficacy of benzocaine as an anaesthetic for Crucian carp (*Carassius carassius*) (short communication). **Vet Anaesth Analg** 37: 132-135, 2010.
- HERMES-SILVA, S.; MEURER, S.; ZANIBONI-FILHO, E. Biologia alimentar e reprodutiva do peixe-cachorro (*Oligosarcus jenynsii* Gunther, 1864) na região do alto rio Uruguai, Brasil. **Acta Scientiarum**, v. 26, n. 2, p. 175-179. 2004.
- HIKASA, Y.; TAKASA, K.; OGASAWARA, T.; OGASAWARA, S. Anesthesia and recovery with tricaine methanesulfonate, eugenol and thiopental sodium in the carp, *Cyprinus carpio*. **Nippon Juigaku Zasshi**, v. 48, p. 341-351, 1986.
- HINOSTROZA, E., SERRANO-MARTÍNEZ, E. Anesthetic effect of tricaine methanesulfonate in juvenile paiches (*Arapaima gigas*). **Rev Inv Vet Perú**; 24(4): 451-458, 2013.
- HISANO, H.; ISHIKAWA, M.M.; FERREIRA, R.A.; BULGARELLI, A.L.A.; COSTA, T.R.; PÁDUA, S.B. Tempo de indução e de recuperação de dourados *Salminus brasiliensis* (Cuvier, 1816), submetidos a diferentes concentrações de óleo de cravo *Eugenia sp.* **Acta Scientiarum: Biological Sciences**, Maringá, 30(3): 303-307, 2008.

HOLLOWAY, A. H.; KEENE, J. L.; NOAKES, D. G.; MOCCIA, R. D. Effects of clove oil and MS-222 on blood hormone profiles in rainbow trout *Oncorhynchus Mykiss*, Walbaum. **Aquacult Res** 35:1025–1030, 2004.

HONCZARYK, A.; INOUE, L.A.K.A. Anestesia do pirarucu por aspersão diretamente nas brânquias do eugenol em solução aquosa. **Ciência Rural**, v.39, n.2, p.577-579, 2009.

HONCZARYK, A.; INOUE, L. A. K. A. Anesthesia in pirarucu by benzocaine sprays in the gills. **Cienc. Rural** [online]. vol.40, n.1, pp.204-207, 2010.

HOSHIBA, M. A.; DIAS, R. M. S.; MOREIRA, K. M. F.; CUNHA, L.; GERALDO, A. M. R.; TAMAJUSUKU, A. S. K. Clove oil and menthol as anesthetic for platy. **Bol. Inst. Pesca**. 41(esp.): 737 - 742, 2015.

HOSKONEN, P.; PIRHONEN, J. Temperature effects on anaesthesia with clove oil in six temperate-zone fishes. **Journal of Fish Biology**, vol. 64, no. 4, pp. 1136-1142, 2004.

HOUSTON, A. H.; CZERWINSKI, C. L.; WOODS, R. J. Cardiovascular and respiratory activity during recovery from anaesthesia and surgery in brook trout (*Salvelinus fontinalis*) and carp (*Cyprinus carpio*), **J. Fish. Res. Board Can.**, 30, 1705–1712, 1973.

HOUSTON, A. H.; WOODS, R. J. Influence of temperature upon tricaine methane sulphonate uptake and induction of anesthesia in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). **Comp. Bioche. Physiol.** 54, 1-6, 1976.

HOWE, G.E.; BILLS, T.D.; MARKING, L. L. Removal of benzocaine from water by filtration with activated carbon, **Prog. Fish Culturist.**, 52(1) 32–35, 1990.

HSEU, J. R.; YEH, S. L.; CHU, Y. T.; TING, Y. Y. Effects of anesthesia with 2-phenoxyethanol on the hematological parameters of four species of marine teleosts. **J Fish Soc Taiwan**, v.23,43-48, 1996.

HUNN, J. B.; ALLEN, J. L. Movement of drugs across the gills of fishes. **Ann Rev Pharmacol** 14:47–55, 1974.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia Estatística. **Produção da Pecuária Municipal**, Rio de Janeiro, v. 44, p. 1-53, 2016.

INOUE, L. A. K. A.; AFONSO, L.; IWAMA, G.; MORAES, G. Effects of clove oil on the stress response of matrinxã (*Brycon cephalus*) subjected to transport. **Acta Amaz**, v.35, n.2, p.145-151, 2005

INOUE, L. A. K. A.; BOIJINK, C. L.; RIBEIRO, C. L.; SILVA, A. M. D.; AFFONSO, E. G. Avaliação de respostas metabólicas do tambaqui exposto ao eugenol em banhos anestésicos. **Acta Amazonica**, v. 41, n. 2, p. 327–332, 2011

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

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

IVERSEN, M.; FINSTAD, 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. **Aquacult**, v. 221, p. 549-566, 2003.

- IWAMA, G. K.; McGEER, J. C.; PAWLUK, M. P. The effects of five fish anaesthetics on acid-base balance, hematocrit, blood gases, cortisol, and adrenaline in rainbow trout. **Canadian Journal of Zoology** 67, 2065–2073, 1989.
- IWAMA, G. K.; VIJAYAN, M. M.; FORSYTH, R. B.; ACKERMAN, P. A. Heat shock proteins and physiological stress in fish. **Am. Zool.** 39, 901 – 909, 1999.
- JAVAHERY, S.; NEKOUBIN, H.; MORADLU, A. H. Effect of anaesthesia with clove oil in fish. **Fish Physiology and Biochemistry**, vol. 38, no. 6, pp. 1545-1552, 2012.
- JEPSEN, N.; KOED, A.; THORSTAD, E. B.; BARAS, E. Surgical implantation of telemetry transmitters in fish: how much have we learned?. **Hydrobiologia** 483: 239–248, 2002.
- JUERGENS, U.R., STOBBER, M., VETTER, H. The anti-inflammatory activity of Lmenthol compared to mint oil in human monocytes in vitro: a novel perspective for its therapeutic use in inflammatory diseases. **European Journal of Medical Research** 3, 539–545, 1998.
- KAFFENBERGER, R. M.; DOYLE, M. J. Determination of menthol and menthol glucuronide in human urine by gas chromatography using an enzyme-sensitive internal standard and flame ionization detection. **J Chromatogr.** 527(1):59-66, 1990.
- KAMATOU, G. P. P.; VERMAAK, I.; VILJOEN, A. M.; LAWRENCE, B. M. Menthol: a simple monoterpene with remarkable biological properties. **Phytochemistry** 96, 15–25, 2013.
- KARAPINAR, M. Inhibitory effects of anethole and eugenol on the growth and toxin production of *Aspergillus parasiticus*. **Int J Food Microbiol** 10:193–200, 1990.
- KASAI, M.; HOSOSHIMA, S.; YUN-FEI, L. Menthol induces surgical anesthesia and rapid movement in fishes. **The Open Neuroscience Journal** 8, 1–8, 2014.
- 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). **Aquat Res** 29:89–101, 1998.
- KILDEA, M. A.; ALLAN, G.L.; KEARNEY, R. E. Accumulation and clearance of the anesthetics clove oil and AQUIS from the edible tissue of silver perch (*Bidyanus bidyanus*). **Aquaculture** 232:265–277, 2004.
- KING, V. W.; HOOPER, B.; HILLSGROVE, S.; BENTON, C.; BERLINSKY, D. L. The use of clove oil, metomidate, tricaine methanesulphonate and 2- phenoxyethanol for inducing anaesthesia and their effect on the cortisol stress response in black sea bass (*Centropomus striata* L.). **Aquaculture Research**, v. 36, n. 14, p. 1442-1449, 2005.
- KOGA, I., FUJII, A., ARAI, H., MISAWA, M. Demonstration of antipruritic effect of Lmenthol in mice. **Pharmacometrics** 77, 87–93, 2009.
- KOLANCZYK, R. C.; FITZSIMMONS, P. N.; McKIM, J. M.; ERICKSON, R. J.; SCHMIEDER, P. K. Effects of anesthesia (tricaine methanesulfonate, MS222) on liver biotransformation in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Aqua. Toxicol.** 64, 177–184, 2003.
- KÜÇÜK, S.; ÇOBAN, D. Effects of Tricaine as an Anaesthetics on Goldfish, *Carassius auratus* (Linnaeus 1758) at Different Salinities and Concentrations. **Turk. J. Fish. Aqu. Sci.** 16,611-616, 2016.
- KUMLU, M.; YANAR, M. Effects of the anesthetic quinaldine sulphate and muscle relaxant diazepam on sea bream juveniles (*Sparus aurata*). **Israeli J Aquacult**, v. 51, p. 143-147, 1999.

- LIMA, L. C.; RIBEIRO, L. P.; LEITE, R. C.; MELO, D. C. Estresse em peixes. **Rev Bras Reprod Anim**, Belo Horizonte, v. 30, n. 3/4, p. 113-117, 2006.
- LIU, E. H.; GIBSON, D. M. Visualization of peroxidase isozymes with eugenol, a noncarcinogenic substrate. **Anal Biochem**, 79:597–601, 1977.
- LORENZO, D.; PAZ, D.; DELLACASSA, E.; DAVIES, P.; VILA, R.; CAÑIGUERAL, S. Essential oils of *Mentha pulegium* and *Mentha rotundifolia* from Uruguay. **Brazilian Archives of Biology Technology**, Curitiba, 45(4): 519-524, 2002.
- MALHEIROS, D. F.; MACIEL, P. O.; VIDEIRA, M. N.; TAVARES-DIAS, M. Toxicity of the essential oil of *Mentha piperita* in *Arapaima gigas* (pirarucu) and antiparasitic effects on *Dawestrema spp.* (Monogenea). **Aquaculture** 455, pp. 81–86, 2016.
- MANUSH, S. M.; PAL, A. K. Anesthetic effect of eugenol and menthol on handling stress in *Macrobrachium rosenbergii*. **Aquaculture**, 298: 162-7, 2009
- MARQUES, B. S.; BELEI, F.; SAMPAIO, W. M. S. Ictiofauna do baixo rio Manhuaçu (Bacia do Médio rio Doce). **Evolução e Conservação da Biodiversidade**, v. 4, p. 32- 41, 2013.
- MARTÍNEZ-PORCHAS, M.; MARTÍNEZ-CÓRDOVA, L. R.; RAMOS-ENRIQUEZ, R. Cortisol and Glucose: Reliable indicators of fish stress? **Pan-American Journal of Aquatic Sciences**, v. 4, n. 2, p. 158-178, 2009.
- MARTINS, G. H.; MAZOTI, J. I.; BERCINI, V. M.; HONORATO, C. A. Tempo de indução e recuperação à anestesia do eugenol para Patinga (*Piaractus brachipomus*). **Arq. Ciênc. Vet. Zool. UNIPAR**, Umuarama, v. 17, n. 4, p. 243-247, 2014.
- MASSEE, K. C., RUST, M. B., HARDY, R. W.; STICKNEY, R. R. The effectiveness of tricaine, quinaldine sulfate and metomidate as anesthetics for larval fish. **Aquac.** 134(3-4):351- 359, 1995.
- MATTA, S. L. P., SANTOS, A. A., ANDRADE, D. R. Distribuição de colágeno e fibras conjuntivas no ovário do lambari-bocarra *Oligosarcus argenteus* (Gunther, 1864)(Pisces, Characidae). **In- Encontro da Associação Mineira de Aquicultura**, 1994.
- MATTA, S. L. P.; GOMES, M. L. M; ANDRADE, D. R. Reproductive biology of *Oligosarcus argenteus* (Gunther, 1864) adult males and description of the gonadal maturation stages. **Braz Arch Biol Techn**, v. 52, p. 119–126, 2009.
- MATTSON, N. S.; RIPLE, T. H. Metomidate, a better anesthetic for cod (*Gadus morhua*) in comparison with Benzocaine, MS-222, chlorobutanol, and phenoxyethanol, **Aquaculture**, 83(1–2) 89–94, 1989.
- MAURA, A.; PINO, A.; RICCI, R. Negative evidence in vivo of DNA-damaging, mutagenic and chromosomal effects of eugenol. **Mutat Res** 227:125–129 (1989).
- MAZANDARANI, M.; HOSEINI, S. M. Menthol and 1,8-cineole as new anaesthetics in common carp, *Cyprinus carpio* (Linnaeus, 1758). **Aquaculture Research**, p. 1–11, 2016.
- McFARLAND W.N. A study of the effects of anaesthetics on the behaviour and physiology of fishes. **Publications of the Institute of Marine Sciences** 6:22-55, 1959.

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

MEINERTZ, J.; STEHLY, G. R.; GINGERICH, W. H. Pharmacokinetic of benzocaine in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) after intraarterial dosing. **Aquaculture**, v.148, p.39-48, 1996.

MELLO, R. A.; COSTA, L.; OKAMURA, D.; ARAÚJO, F. G.; RIBEIRO, P. A. P.; CORRÊA, F. M.; ROSA, P. V. Avaliação de 2-fenoxietanol e mentol como agentes anestésicos em tilápias. **Boletim do Instituto de Pesca** 38, 53–59, 2012.

MITJANA, O.; BONASTRE, C.; INSUA, D.; FALCETO, M.V.; ESTEBAN, J.; JOSA, A.; ESPINOSA, E. The efficacy and effect of repeated exposure to 2-phenoxyethanol, clove oil and tricaine methanesulphonate as anesthetic agents on juvenile Angelfish (*Pterophyllum scalare*). **Aquaculture** 433:491–495, 2014.

MORALES, A. E.; CARDENETE, G.; ABELLÁN, E.; GARCÍA-REJÓN, L. Stress-related physiological responses to handling in common dentex (*Dentex dentex* Linnaeus, 1758). **Aquacult. Res.**, v.36, p.33-40, 2005.

MOREIRA, A. G. L.; COELHO, A. A. C.; ALBUQUERQUE, L. F. G.; MOREIRA, R. T.; FARIAS, W. R. L. Efeito do eugenol como agente mitigador do estresse no transporte de juvenis de tilápia do Nilo. **Pesq. Vet. Bras.** 35(11):893-898, 2015.

MUIR, B. S. Gill dimensions as a function of fish size. **J Fish Res Board Can** 26:165–170, 1969.

MUNDAY, P. L.; WILSON, S. K. Comparative efficacy of clove oil and other chemicals in anaesthetization of *Pomacentrus amboinensis*, a coral reef fish. **J. Fish Biol.**, London, v. 51, p. 931-938, 1997.

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. **Aquac** 246, 467–481, 2005.

NAGABABU, E.; LAKSHMAIAH, N. Inhibitory effect of eugenol on non-enzymatic lipid peroxidation in rat liver mitochondria. **Biochem Pharmacol** 43(11):2393–2400, 1992.

NAVARRO, R. D.; de FRANÇA, R. P.; PALUDO, G. R.; BIZARRO, Y. W. S.; da SILVA, R. F.; NAVARRO, F. K. S. Physiological and hematological responses of Nile tilapia (*Oreochromis Niloticus*) to different anesthetics during simulated transport conditions. **Acta Scientiarum. Technology** Maringá, v. 38, n. 3, p. 301-306, 2016

NCI – NATIONAL CANCER INSTITUTE. Bioassay of dl-menthol for possible carcinogenicity. Bethesda. 126p. (NCI. **Technical Report Series**, 98), 1979.

NEVES, C. A., ANDRADE, D. R., MATTA, S. L. P., VIDAL Jr, M. V., SANTOS, A. A. Cytochemical analysis of polysaccharides from the cortical alveoli of the lambari-bocarra (*Oligosarcus argenteus* Gunther, 1864)(Pisces, *Characidae*). **Rev. Bras. Biol.**, 55(4), 693-696, 1995.

NEVES, C. A., ANDRADE, D. R., MATTA, S. L. P., VIDAL Jr, M. V., SANTOS, A. A. The zona pellucida of the freshwater fish *Oligosarcus argenteus* Gunther, 1864 (Pisces, *Characidae*): a cytochemical study. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, 48, Supl.1, 25-32, 1996.

- NEVES, C. A., VIDAL Jr, M. V., ANDRADE, D. R., MATTA, S. L. P., SANTOS, A. A. Histoquímica dos polissacarídeos dos ovócitos IV do lambari-bocarra (*Oligosarcus argenteus* Gunther, 1864). **Encontro Anual da Associação Mineira de Aquicultura**, 1, 40-41, 1991.
- NORDGREEN, J.; TAHAMTANI, F. M.; JANCZAK, A. M.; HORSBERG, T. E. Behavioural effects of the commonly used fish anaesthetic tricaine methanesulfonate (MS-222) on zebrafish (*Danio rerio*) and its relevance for the acetic acid pain test. **PLoS One**. 9(3):e92116, 2014.
- OECD - Screening Information Dataset (SIDS) Initial Assessment Profile, 2003. Disponível em: www.inchem.org/documents/sids/sids/MENTHOLS.pdf. Acesso em: 28 de dezembro de 2017.
- OHR, E. A. Tricaine methanesulphonate-l, pH and its effects on anaesthetic potency. **Comp Biochem Physiol** 54:13-17, 1976.
- OIKAWA, S.; ITAZAWA, Y. Gill and body-surface areas of the carp in relation to body-mass, with special reference to the metabolism-size relationship. **J Exp Biol** 117:1-14, 1985.
- OKAMOTO, M. H.; TESSER, M. B.; LOUZADA, L. R.; dos SANTOS, R. A.; SAMPAIO, L. A. Benzocaína e eugenol como anestésicos para juvenis do pampo *Trachinotus marginatus*. **Ciência Rural, Santa Maria**, v. 39, n. 3, p. 866-870, 2009.
- OKAMURA, D.; GUEDES DE ARAÚJO, F.; VIEIRA, P.; FONSECA DE FREITAS, T.; SOLIS MURGAS, L.; PINTO CÉSAR, M. Influência da concentração de benzocaína e do comprimento dos peixes na anestesia e na recuperação de tilápias-do-Nilo. **R. Bras. Zootec.** 39 (5), 971-976, 2010.
- OLIVEIRA, J. G. de; ABREU-FILHO, B. A. de. Propriedade antimicrobiana do eugenol frente às amostras de *Alicyclobacillus spp.* isoladas de suco de laranja. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, v.71, n. 2, 2012.
- OLIVEIRA, J. R.; CARMO, J. L.; OLIVEIRA, K. K. C.; SOARES, M. C. F. Cloreto de sódio, benzocaína e óleo de cravo-da-índia na água de transporte de tilápia-do-nilo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, p.1163-1169, 2009.
- OSTRENSKY, A.; PEDRAZZANI, A. S.; VICENTE, A. L. Use of MS-222 (tricaine methanesulfonate) and propofol (2,6-diisopropylphenol) as anaesthetics for the tetra *Astyanax altiparanae* (Teleostei, Characidae). **Aquaculture Research**, p. 1-12, 2015.
- OSWALD, R. L. Injection anaesthesia for experimental studies in fish, **Comp. Biochem. Physiol.**, 60C, 19-26, 1978.
- OZ, M.; NEBRISI, E. G. E.; YANG, K. H. S.; HOWARTH, F. C.; KURY, L. T. A. Cellular and Molecular Targets of Menthol Actions. **Frontiers in Pharmacology**, v. 8, article 472, pp. 1-17, 2017.
- PÁDUA, S. B.; PIETRO, P. S.; IGLESIAS-FILHO, P. S.; ISHIKAWA, M. M.; HISANO, H. Mentol como anestésico para dourado (*Salminus brasiliensis*). **Bol. Inst. Pesca, SP**, v36, n2, p.143-148, 2010.
- PARK, M. O.; HUR, W. J.; IM, S. Y.; SEOL, D. S.; LEE, J. H.; PARK, I-S. Anaesthetic efficacy and physiological responses to clove oil-anaesthetized kelp grouper *Epinephelus bruneus*. **Aquacult Res.** 39:877-884, 2008.
- PARMA DE CROUX, M. J. Benzocaine (*Ethyl-p-Aminobenzoate*) as na anaesthesia for *Prochilodus lineatus*, Valenciennes (Pisces, Curimatidae). **J. Appl. Ichthyol**, v. 6, p. 189-192, 1990.
- PATEL, T.; ISHIUJI, Y.; YOSIPOVITCH, G. Menthol: A refreshing look at this ancient compound. **American Academy of Dermatology** 57:873-878, 2007.

PEREIRA-da-SILVA, E. M.; OLIVEIRA, R. H. F.; NERO, B.D. Menthol as anaesthetic for lambari *Astyanax altiparanae* (Garutti & Britski 2000): attenuation of stress responses. **Aquaculture Research** 47, 1413–1420, 2014.

PEREIRA-DA-SILVA, E. M.; OLIVEIRA, R. H. F.; RIBEIRO, M. A. R. R.; COPPOLA, M. P. Efeito anestésico do óleo de cravo em alevinos de lambari. **Ciência Rural**, v. 39, n. 6, 2009.

PICKERING, A.D., DUSTON, J. Administration of cortisol to brown trout, *Salmo trutta* L., and its effects on the susceptibility to Saprolegnia infection and furunculosis. **J. Fish Biol.** 23,163–175, 1983.

PRINCE, A.; POWELL, C. Clove oil as an anaesthetic for invasive field procedures on adult Rainbow trout, **N. Am. J. Fish. Manage.**, 20(4), pp. 1029–1032, 2000.

RANG, H. P.; DALE, M. M.; RITTER, J. M.; MOORE, P. K. Pharmacology. Churchill Livingstone, London, 2003.

RANTIN, F. T.; GLASS, M. L.; KALININ, A. L.; VERZOLA, R. M. M.; FERNANDES, M. N. Cardio-respiratory responses in two ecologically distinct erythrinids (*Hoplias malabaricus* and *Hoplias lacerdae*) exposed to graded environmental hypoxia. **Env Biol Fish** 36:93-97, 1993.

RIBAS, L.; FLOS, R.; REIG, L.; MACKENZIE, S.; BARTON, B. A.; TORT, L. Comparison of methods for anaesthetizing Senegal sole (*Solea senegalensis*) before slaughter: Stress responses and final product quality. **Aquaculture**, v. 269, p. 250–258, 2007.

RIBEIRO, P. A. P.; COSTA, L. S.; ELOY, A. A.; ROSA, P. V.; MURGAS, L. D. S. Aceite de clavo como anestésico para el pez pacu (*Piaractus mesopotamicus*). **Anales de Vet.**, v. 26, p. 69-76, 2010.

RIBEIRO, P. A. P.; de MELO, D. C.; SANTO, A. H. E.; SILVA, W. S.; SANTOS, A. E. H.; LUZ, R. K. A tricaine as an anaesthetic for larvae and juveniles of *Lophiosilurus alexandri*, a carnivorous freshwater fish. **Aquaculture research** 46:1788–1792, 2015.

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

ROCHA, C. M. C. da; RESENDE, E. K.; ROUTLEDGE, E. A. B.; LUNDSTEDT; L. M. Avanços na pesquisa e no desenvolvimento da aquicultura brasileira. **Pesq. agropec. bras., Brasília**, v. 48, n. 8, p. 4-6, 2013.

RODRIGUES, R., B.; AMORIN MELO, I., W.; ROCHA, J., D., M., SILVA, T., C.; BRIDI, V., R., C.; FEIDEN, A.; BITTENCOURT, F.; BOSCOLO, W., R. Eugenol como anestésico para alevinos de patinga (*Piaractus mesopotamicus* x *Piaractus brachypomus*). **Rev. Bras. de Hig. e Sanidade Animal**, v.9, n.4, p. 634-644, 2015.

RODRIGUES, R., B.; AMORIN MELO, I., W.; ROCHA, J., D., M., SILVA, T., C.; BRIDI, V., R., C.; SIGNOR, A.; BITTENCOURT, F.; BOSCOLO, W., B. Tempo de indução e recuperação à anestesia da benzocaína para patinga (*Piaractus mesopotamicus* x *Piaractus brachypomus*). **Rev. Bras. de Hig. e Sanidade Animal**, v.10, n.3, p. 364-373, 2016.

ROSS, L. G. Restraint, anaesthesia, and euthanasia. In: Wildgoose WH, ed. **BSAVA Manual of Ornamental Fish**, 2nd ed. Gloucester: BSAVA, p. 75-83, 2001.

ROSS, L. G.; GEDDES, J. A. Sedation of warm-water fish species in aquaculture research, **Aquaculture**, v. 16, pp. 183–186, 1979.

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

ROTHWELL, S. E.; BLACK, S. E.; JERRET, A. R.; FORSTER, M. E. Cardiovascular changes and catecholamine release following anaesthesia in Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) and snapper (*Pagrus auratus*). **Comp Biochem Physiol**, v. 140, p. 289-298, 2005.

ROTILI, D. A.; DEVENS, M. A.; DIEMER, O.; LORENZ, E. K.; LAZZARI, R.; BOSCOLO, W. R. Uso de eugenol como anestésico em pacu. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v.42, n.3, p.288-294, 2012.

ROUBACH, R.; GOMES, L. C. O 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**, v. 36, n. 11, p. 1056-1061, 2005.

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

ROUTLEY, M. H.; NILSSON, G. E.; RENSHAW, G. M. C. Exposure to hypoxia primes the respiratory and metabolic responses of the epaulette shark to progressive hypoxia. **Comp Biochem Physiol Part A** 131:313-321, 2002.

RUPPERT, E. E.; BARNES, R. D. Zoologia dos Invertebrados (6th edn). Roca, São Paulo, Brazil, 1996.

SABBAG, O. J.; TAKAHASHI, L. S.; SILVEIRA, A. N.; ARANHA, A. S. Custos e viabilidade econômica da produção de lambari do rabo amarelo em Monte Castelo/SP: Um estudo de caso. **Bol. Inst. Pesca**, São Paulo, v. 37, n. 3, p. 307-315, 2011.

SABZGHABAEE, A.M., NILI, F., GHANNADI, A., EIZADI-MOOD, N., ANVARI, M. Role of menthol in treatment of candidial napkin dermatitis. **World Journal of Pediatrics** 7, 167–170, 2006.

SANCHEZ, M., S., dos S.; RODRIGUES, A., R.; NUNES, A., L.; OLIVEIRA, A., M., da S.; FANTINI, L., E., CAMPOS, C., M. Efeito do mentol e eugenol sobre as respostas fisiológicas do pacu *Piaractus mesopotamicus*. **Sem. Cienc. Agrárias**, Londrina, v. 35, n.4, p. 2799-2808, 2014a.

SANCHEZ, M., S., dos S.; RODRIGUES, A., R.; NUNES, A., L.; OLIVEIRA, A., M., da S.; FANTINI, L., E., CAMPOS, C., M. Respostas fisiológicas de cacharas *Pseudoplatystoma reticulatum* submetidos a anestésicos naturais. Semina: **Ciências Agrárias**, Londrina, v. 36, n. 2, p. 1061-1070, 2014b.

SANTOS, A. A. Morfologia microscópica do ovário de *Oligosarcus argenteus* Gunther, 1864 (Pisces: Characidae). Monografia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Brasil, 1993.

SANTOS, A. A., MATTA, S. L. P., ANDRADE, D. R. Época e tipo de desova de lambari *Oligosarcus argenteus*. Anais do Encontro Brasileiro de Ictiologia, G4-G4, 1995.

SCHMIDT-NIELSEN, K. Scaling: why is animal size so important?. Cambridge University Press, New York, 1984.

SCHOETTGER R. A.; JULIN, A. M. Efficacy of MS-222 as an anaesthetic on four salmonids. **In: Investigations in fish control, Resource Publication 19**. U.S. Department of the Interior, Bureau of Sport Fisheries and Wildlife, Washington, DC, pp 3–15, 1967.

SCHOETTGER, R. A.; STEUCKE, E. W. Synergic Mixtures of MS-222 and Quinaldine as Anaesthetics for Rainbow trout and Northern Pike. **Progress in Fish Culture**, 32, 202-205, 1970.

SCHRAMM, H. L.; BLACK, D. J. Anaesthesia and surgical procedures for implanting radio transmitters into grass carp, **Prog. Fish Culturist.**, 46(3), pp. 185–190, 1984.

SCHRECK, C. B. Stress and compensation in teleostean fishes: response to social and physical factors. In: Stress and Fish. Pickering AD (ed.). **Academic Press, London**. pp. 295–321, 1981.

SEPULCHRO, L. C. O. R.; CARVALHO, M. A. G.; GOMES, L. C. Salinity does not alter the effectiveness of menthol as an anesthetic and sedative during the handling and transport of juvenile fat snook (*Centropomus parallelus*). **Braz. J. Biol.**, vol. 76, no. 3, pp. 757-763, 2016.

SIDDIQUI, Y. M. Effect of essential oils on the enveloped viruses: antiviral activity of oregano and clove oils on herpes simplex virus type I and Newcastle disease virus. *Med Sci Res* 24:185, 1996.

SIDONIO, L.; CAVALCANTI, I.; CAPANEMA, L.; MORCH, R.; MAGALHÃES, G.; LIMA, J.; BURNS, V.; ALVES JÚNIOR, A.J.; MUNGIOLI, R. Panorama da aquicultura no Brasil: desafios e oportunidades. **BNDES Setorial**, v. 35, p. 421-463, 2012.

SIGMA-ALDRICH - Sigma-Aldrich Handels Gmbh. Cotação online dos anestésicos. Disponível em: <https://www.sigmaaldrich.com/austria/about-us.html>. Acesso: 28 de dezembro de 2017.

SILVA, J. M. F.; ANDRADE, D. R.; SOUZA, J. R.; BRAGA FILHO, J. M. Efeito do consórcio com lambaris-bocarras (*Oligosarcus argenteus* Gunther, 1864) no aumento da produtividade de tilápias-nilóticas (*Oreochromis niloticus* L.) alimentadas com ração farelada. **Ceres**. 238:595-607, 1994.

SILVA, J. V. Utilização de insetos e ração na alimentação de lambari-bocarra, *Oligosarcus argenteus* Gunther, 1864 (Pisces: Characidae), em gaiolas. Tese de Mestrado, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Brasil, 1990.

SILVA, N. J. R. da; LOPES, M. C.; GONCALVES, F. H. A. S. B.; GONSALES, G. Z.; HENRIQUES, M. B. Avaliação do potencial do mercado consumidor de lambari da Baixada Santista. **Informações Econômicas**, SP, v. 41, n. 12, 2011.

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

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

SIMÕES, L., N.; GOMIDE, A., T., M.; ALMEIDA-VAL, V., M., F.; VAL, A., L.; GOMES, L., C. O uso do óleo de cravo como anestésico em juvenis avançados de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Acta cientiarum**. Animal Sciences, Maringá, v. 34, n. 2, p. 175-181, 2012.

SKJERVOLD, P.O. FJAERA, S.O.; OSTBY, P. B.. Rigor in Atlantic salmon as affected by crowding stress prior to chilling before slaughter. **Aquaculture**, v.175, p.93-101, 1999.

SLADKY, K.K.; SWANSON, C.R.; STOSKOPF, M.K.; LOOMIS, M.R.; LEWBART, G. A. Comparative efficacy of tricaine methanesulfonate and clove oil for use as anesthetics in red pacu (*Piaractus brachipomus*). **Am. J. Vet. Res.** 62, 337–342, 2001.

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

SMALL, B.C. Effect of isoeugenol sedation on plasma cortisol, glucose, and lactate dynamics in channel catfish *Ictalurus punctatus* exposed to three stressors. **Aquaculture** 238, 469–481, 2004.

SMIT, G. L.; HATTINGH, J.; BURGER, A. P. Haematological assessment of the effects of the anaesthetic MS 222 in natural and neutralized form in three freshwater fish species: interspecies differences. **J. Fish Biol.** 15: 633-643, 1979.

SNEDDON, L. U. Clinical anesthesia and analgesia in fish. **Journal of Exotic Pet Medicine** 21, 32–43, 2012.

SODERSTROM, V.; RENSHAW, G. M. C.; NILSSON, G. E. Brain blood flow and blood pressure during hypoxia in the epaulette shark *Hemiscyllium ocellatum*, a hypoxia-tolerant elasmobranch. **J Exp Biol** 202:829-835, 1999,

SOIVIO, A.; NYHOLM, K.; HUHTI, M. Effects of anaesthesia with MS 222, neutralized MS 222 and benzocaine on the blood constituents of rainbow trout, *Salmo gairdneri*. **J. Fish Biol.** 10, 91 – 101, 1977.

SORUM, U.; DAMSGARD, B. Effects of anaesthetisation and vaccination on feed intake and growth in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). **Aquaculture**, 232: 1-4, 2004.

SOTO, C. G.; BURHANUDDIN, G. Clove oil as a fish anaesthetic for measuring length and weight of rabbitfish (*Siganus lineatus*). **Aquaculture**, vol. 136, no. 1, pp. 149-152, 1995.

SOUZA, J. R.; ANDRADE, D. R. Produção de lambari-bocarra (*Oligosarcus argenteus*) (Pisces: Characidae) em cativeiro. **Revista Ceres**, 31(176), p. 310-312, 1984.

SOUZA, J. S. L.; GUALBERTO, G. F.; O'SULLIVAN, F. L. A Influência da temperatura o crescimento de juvenis de Tambaqui. **Jornada de Iniciação científica da Embrapa Amazônia Ocidental Manaus**, AM, v. 10, 2013.

SOUZA, R., A., S.; CARVALHO, C., V., A.; NUNES, F., F.; SCOPEL, B., R.; GUARIZI, J., D.; TSUZUKI, M., Y. Efeito comparativo da benzocaína, mentol e eugenol como anestésicos para juvenis de robalo peva. **Boletim do Instituto de Pesca**, v.38, p.247-255, 2012.

SOUZA, R., L., M.; VETTORAZZI, M., B.; KOBAYASHI, R., K.; FURTADO NETO, M., de A.. Eugenol como anestésico no manejo de ariacó, *Lutjanus synagris* (LINNAEUS, 1958), cultivado. **Rev. Ciência Agrônômica**, v. 46, n. 3, p. 532-538, 2015.

STECCHINI M. L.; SARAIS, I.; GIAVEDONI, P. Effects of essential oils on *Aeromonas hydrophila* in a culture medium and in cooked pork. **J Food Protect** 56:406–409, 1993.

STONE, D.; TOSTIN, N. Clove bud oil a big yawn for silver perch. **Fish NSW Mag Spring** 19, pp 30–34, 1999.

STRANGE, R. J.; SCHRECK, C. B. Anesthetic and handling stress on survival and cortisol concentration in yearling chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). **J. Fish. Res. Board Can.** 35:345-349, 1978

STRINGHETTA, G. R.; BARBAS, L. A. L.; MALTEZ, L. C.; SAMPAIO, L. A.; MONSERRAT, J. M.; GARCIA, L. O. Oxidative stress responses of juvenile tambaqui *Colossoma macropomum* after short-term anesthesia with benzocaine and MS-222. **An Acad Bras Cienc**, v. 89, pp. 2209-2218, 2017.

SUMMERFELT, R. C.; SMITH, L. S. Methods for fish biology. In: Schreck CB, Moyle PB (eds) Anaesthesia, surgery and related techniques. **American Fisheries Society**, Bethesda, pp 213–272. 1990.

SUSSEL, F. R. Fontes e níveis de proteína na alimentação do lambari-do-rabo-amarelo: desempenho produtivo e análise econômica. **Tese (Doutorado)** – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, p. 92, 2012.

SYLVESTER, J. R. Factors influencing the efficacy of MS-222 to striped mullet (*Mugil cephalus*). **Aquaculture**, Amsterdam, 6(2): 163-169, 1975.

TAKEDA, T.; YAMASAKI, K.; ITAZAWA, Y. Effect of MS 222 on respiration and efficacy of forced branchial irrigation with the anesthetic solution in carp, **Bull. Jpn. J. Sci. Fish.**, 53(10), pp. 1701–1709, 1987.

TEIXEIRA, E. G.; MOREIRA, A. G. L.; MOREIRA, R. L.; LIMA, F. R. S. Mentol como anestésico para diferentes classes de tamanho de tilápia do Nilo. **Archives of Veterinary Sciences**, 16, 75–83, 2011.

TOPIC POPOVIC, N.; STRUNJAK-PEROVIC, I.; COZ-RAKOVAC, R.; BARISIC, J.; JADAN, M.; PERSIN BERA KOVIC. A.; SAUERBORN KLOBUCAR R. Tricaine methane-sulfonate (MS-222) application in fish anaesthesia. **Journal of Applied Ichthyology** 28, 553–564, 2012.

TREVES-BROWN, K. M. Anaesthetics in applied fish pharmacology. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Netherlands: 206-217, 2000.

VARTAK V., R.; GHUGHUSKAR, M., M.; SINGH R., K. Effect of clove oil as an anaesthetic on the fry of fishes, Silver dollar (*Metynnis schreitmulleri* Ahl), Sword tail (*Xiphophorus helleri* Heckel) and Pearl gourami (*Trichogaster leeri* Bleeker). **Appl Fish Aquac**, 2:7–9, 2002.

VAZZOLER, A. E. A. de M.; MENEZES, N. A. Síntese de conhecimentos sobre o comportamento reprodutivo dos Characiformes da America do Sul (*Teleostei, Ostariophysi*). **Rev. Brasil. Biol.**, Rio de Janeiro, v. 52, n. 4, p.627-640, 1992.

VELASCO-SANTAMARIA, Y.; PALACIOS-RUIZ, C.; CRUZ-CASALLAS, P. Eficiencia anestésica de 2-fenoxietanol, benzocaína, quinaldina y metasulfonato de tricaína en alevinos y juveniles de cachama blanca (*Piaractus brachypomus*). **Rev MVZ Córdoba** 13: 1435-1445, 2008.

VELISEK, J.; SVOBODAVA, Z. Anaesthesia of common carp (*Cyprinus carpio* L.) with 2-phenoxyethanol: acute toxicity and effects on biochemical blood profile. **Acta Vet Brno** 73:247–252, 2004.

VELISEK, J.; SVOBODOVA, Z.; PIACKOVA, V. Effects of Clove Oil Anaesthesia on Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). **ACTA VET. BRNO**, 74: 139-146, 2005b.

VELISEK, J.; SVOBODOVA, Z.; PIACKOVA, V.; GROCH, L.; NEPEJCHALOVA, L. Effects of clove oil anaesthesia on common carp (*Cyprinus carpio* L.). **Vet. Med.** – Czech, 50, (6): 269–275, 2005a

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

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 Sci. Biol. Sci.**, v.28, p.275-279, 2006.

VIDAL, L., V., O.; FURUYA, W., M.; GRACIANO, T., S.; SCHAMBER, C., R.; SANTOS, L., D.; SOARES, C., M. Concentrações de Eugenol para anestesia profunda e toxicidade aguda em juvenis de piauçu (*Leporinus macrocephalus*). **Acta Scientiarum. Biological Science**, v.29, p.357- 362, 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*). **Rev. Bras. Saúde Prod. An.**, v.8, n.4, p. 335-342, 2007b.

VIEIRA, F.; GOMES, J. P. C.; MAIA, B. P.; MARTINS, L. G. Peixes do Quadrilátero Ferrífero: guia de identificação. **Fundação Biodiversitas**, Belo Horizonte. 208 p. ilustr., 2015.

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**. 34, 1139-1146, 2003.

WALSH, C. T.; PEASE, B. C. The use of clove oil as an anesthetic for the long finned eel, *Anguilla reinhardtii* (Steindachner). **Aquaculture Research** 33:627-635, 2002.

WANG, Y., WANG, X., YANG, Z., ZHU, G., CHEN, D., MENG, Z. Menthol inhibits the proliferation and motility of prostate cancer DU145 cells. **Pathology and Oncology Research** 18, 903–910, 2012.

WATERSTRAT, P. R. Induction and recovery from anaesthesia in channel catfish *Ictalurus punctatus* fingerlings exposed to clove oil. **J World Aquacult Soc** 30:250–255, 1999.

WATT, E. E.; BETTS, B. A.; KOTEY, F. O.; HUMBERT, D. J.; GRIFFITH, T. N.; KELLY, E. W.; VENESKEY, K. C.; GILL, N.; ROWAN, K. C.; JENKINS, A.; HALL, A. C. Menthol shares general anesthetic activity and sites of action on the GABA_A receptor with the intravenous agent, propofol. **European Journal of Pharmacology**, Amsterdam, 590(1/3): 120-126, 2008.

WAYSON, K. A. Studies on the comparative pharmacology and selective toxicity of tricaine methanesulfonate: metabolism as a basis of the selectivity toxicity in poikilotherms. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics** 198: 695–708, 1976.

WEDEMEYER, G. Stress-induced ascorbic acid depletion and cortisol production in two salmonid fishes. **Comp. Biochem. Physiol.**, 29, 1247–1251, 1969.

- WELKER, T.; LIM, C.; YILDIRIM-AKSOY, M. Effect of buffered and unbuffered tricaine methanesulfonate (MS-222) at different concentrations on the stress responses of channel catfish, *Ictalurus punctatus*. **Journal of Applied Aquaculture**, v. 19, p. 1–18, 2007.
- WENDERLAAR BONGA, S. E. The stress response in fish. **Physiological Reviews**, Washington, v. 77, n. 4, p. 591-625, 1997.
- WOODY, C. A.; NELSON, J.; RAMSTAD, K. Clove oil as an anesthetic for adult sockeye salmon: field trails. **Journal of fish biology** 60:340-347, 2002.
- WOOLSEY, J., HOLCOMB, M. AND INGERMANN, R. Effect of temperature on clove oil anaesthesia in steelhead fry. **N. Am. J. Aquacult**,(66): 35-41, 2004.
- YAMANA, Y.; HAMANO, T.; YAMAMOTO, K. Anesthetizer of the adult sea cucumber *Apostichopus japonicus*. **Nippon Suisan Gakkaishi**; 71(3): 299-306, 2005.
- YASUI, G. S. and ANDRADE, D. R. O manejo da reprodução natural e artificial e sua importância na produção de peixes no Brasil. **Rev. Bras. Reprod. Animal**, v.27, n.2, p.166-172, 2003.
- YOSHIMURA, H.; NAKAMURA, M.; KOEDA, T. Mutagenicity screening of anesthetics for fishes. **Mutation Res** 90: 119–124, 1981.
- 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** 295 (2009) 52–59, 2009.
- ZAHL, I.H.; SAMUELSEN, O.; KIESSLING, A. Anaesthesia of farmed fish: implications for welfare. **Fish Physiol Biochem** 38: 201-218, 2012.
- ZHENG, G.; KENNEY, P. M.; LAM, L. K. T. Sesquiterpenes from clove (*Eugenia caryophyllata*) as potential anticarcinogenic agents. **J Nat Prod** 55(7):999–1003, 1992.

3. OBJETIVO

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o efeito dos anestésicos benzocaína, óleo de cravo, MS-222 e mentol na anestesia de lambari-bocarra (*Oligosarcus argenteus*).

3.2 OBJETIVO ESPECÍFICO

Determinar as concentrações ideais dos anestésicos para a anestesia profunda e cirúrgica de *O. argenteus*;

- Avaliar o tempo de indução e recuperação relativos às diferentes concentrações de anestésicos;
- Avaliar o tempo de retorno ao apetite dos lambari-bocarra submetidos a cada anestésico;
- Avaliar a sobrevivência de lambari-bocarra durante e após 96h de exposição aos anestésicos;

CAPÍTULO 1

A eficácia da tricaína, benzocaína, óleo de cravo e mentol como anestésicos para o lambari bocarra *Oligosarcus argenteus*

Uehara, S. A. ; Andrade, D. R.; Takata, R. ; Gomes Júnior, A. V. ; Vidal Jr., M. V .

RESUMO

A eficácia de quatro agentes anestésicos (tricaína, benzocaína, óleo de cravo e mentol) foi avaliada em lambari bocarra *Oligosarcus argenteus*. Os adultos com $11,3 \pm 3,3$ g e comprimento total de $10,2 \pm 1,1$ cm foram expostos as concentrações de tricaína (25, 50, 75, 100, 125, 150 e 175 mg L⁻¹) benzocaína (25, 50, 75, 100 e 125 mg L⁻¹), óleo de cravo (25, 50, 75, 100 e 125 mg L⁻¹) e mentol (25, 50, 75, 100 e 125 mg L⁻¹) até a anestesia profunda e cirúrgica. O efeito de cada anestésico foi avaliado medindo o tempo de indução até a anestesia profunda (perda inicial de equilíbrio, ausência de natação, redução de movimentos operculares e de respostas a estímulos táteis intensos), anestesia cirúrgica (perda total de equilíbrio e reatividade), o tempo de recuperação e o tempo de retorno a apetite e mortalidade após 96 horas do procedimento. Para todos os anestésicos, o aumento das concentrações proporcionou uma diminuição do tempo de indução. O MS-222 (tricaína) não foi eficaz em promover a anestesia profunda em baixas concentrações 25, 50 e 75 mg L⁻¹ em até 30 minutos de exposição. A anestesia profunda e cirúrgica foi alcançada no tempo de 3 min nas concentrações de 100 a 175 e 150 a 175 mg de MS-222 L⁻¹, respectivamente. As maiores concentrações de MS-222, 150 e 175 mg L⁻¹, proporcionaram os menores tempos de indução. A benzocaína na concentração de 25 mg L⁻¹ não foi eficaz em promover a anestesia profunda durante os 30 minutos de exposição. Nos estágios de anestesia profunda e cirúrgica, as concentrações entre 75 a 125 e 100 a 125 mg de benzocaína L⁻¹, respectivamente, forneceram tempos de indução inferiores a 3 min. Os tempos de recuperação foram superiores nas concentrações de 50 a 100 mg de benzocaína L⁻¹. Entre os anestésicos avaliados, o óleo de cravo apresentou a menor concentração efetiva para induzir a anestesia. Para alcançar o estágio profundo e cirúrgico, os peixes podem ser expostos nas concentrações de 50 e 75 mg de óleo de cravo-óleo L⁻¹, respectivamente. Não houve diferença nos tempos de recuperação utilizando as concentrações de 25 a 125 mg de óleo de cravo L⁻¹. Todas as concentrações testadas com mentol foram eficazes na promoção da anestesia profunda. Não houve diferença no tempo de recuperação nas concentrações de 50 a 125 mg de mentol L⁻¹ e os maiores tempos foram encontrados nas concentrações de 25 e 50 mg de mentol L⁻¹. Os peixes expostos às concentrações de 50 a 125 mg de mentol L⁻¹ não apresentaram diferenças no tempo de indução para alcançar a anestesia profunda. Não foram encontrados efeitos dos anestésicos sobre a mortalidade dos peixes durante os experimentos e o retorno do apetite ocorreu antes das 24h. Em conclusão, os anestésicos testados foram eficazes para induzir *O. argenteus* à anestesia. As concentrações indicadas para a anestesia profunda foram de 100 e 75 mg L⁻¹ para MS-222 e benzocaína, respectivamente, e 50 mg L⁻¹ para óleo de cravo e mentol. Para o estágio cirúrgico, as concentrações recomendadas foram 150, 100, 75 e 100 mg L⁻¹ para MS-222, benzocaína, óleo de cravo e mentol, respectivamente.

Palavras-chave: MS-222, benzocaína, óleo de cravo, mentol, anestésicos naturais, manejo, anestesia profunda, aquicultura.

The effectiveness of tricaine, benzocaine, clove oil and menthol as anesthetics for lambari bocarra *Oligosarcus argenteus*

Uehara, S. A. ; Andrade, D. R.; Takata, R. ; Gomes Júnior, A. V. ; Vidal Jr., M. V .

ABSTRACT

The efficacy of four anesthetic agents (tricaine, benzocaine, clove oil and menthol) was evaluated in the lambari bocarra *Oligosarcus argenteus*. Adults with 11.3 ± 3.3 g and total length of 10.2 ± 1.1 cm were exposed to anesthetics tricaine (25, 50, 75, 100, 125, 150 and 175 mg L⁻¹) benzocaine (25, 50, 75, 100 and 125 mg L⁻¹), clove oil (25, 50, 75, 100 and 125 mg L⁻¹) and menthol (25, 50, 75, 100 and 125 mg L⁻¹) up to deep and surgical anesthesia. The anesthetics effect were evaluated measuring the induction time to deep (initial loss of equilibrium, absence of swimming, reduction of opercular movements, and responses only to intense tactile stimuli) and surgical anesthesia (total loss of equilibrium and reactivity), recovery time, time to return to appetite and mortality rate after 96 hours of procedure. For all anesthetics, the increase of concentrations provided a decreasing of induction time. The MS-222 was not effective on promoting deep anesthesia in the low concentrations 25, 50 and 75 mg L⁻¹ during the first 30 min. The deep and surgical anesthesia was reach in the time of 3 min in concentrations ranging from 100 to 175 and 150 and 175 mg of MS-222 L⁻¹, respectively. The highest concentrations of MS-222, 150 and 175 mg L⁻¹, provided the lower induction time. The benzocaine at concentration of 25 mg L⁻¹ was not effective in promoting deep anesthesia during the first 30 min. In the deep and surgical anesthesia stages, the concentrations between 75 to 125 and 100 and 125 mg of benzocaine L⁻¹, respectively, provided induction time below than 3 min; Recovery time was superior in concentrations ranging from 50 to 100 mg of benzocaine L⁻¹. Among evaluated anesthetics, the clove oil showed the lower concentration effective to induce to anesthesia. To reach deep and surgical stage, fish can be exposed to concentrations of 50 and 75 mg of clove oil L⁻¹. There was no difference in recovery time using concentrations ranging from 25 to 125 mg of clove oil L⁻¹. All concentrations tested with menthol were effective in promoting deep anesthesia. There was no difference in recovery time between concentrations of 50 to 125 mg of menthol L⁻¹ and the higher times were found at concentrations of 25 and 50 mg of menthol L⁻¹. Fish exposed to concentrations from 50 to 125 mg of menthol L⁻¹ did not show differences in induction time for reach deep anesthesia. No anesthetics effects on fish mortality were found during experiments and the return of appetite occurred before 24h. In conclusion, the anesthetics tested were effective to induce *O. argenteus* to anesthesia, and concentrations indicate that provoked deep anesthetics were 100 and 75 mg L⁻¹ for MS-222 and benzocaine, respectively, and 50 mg L⁻¹ for clove oil and menthol. To surgical stage, the recommended concentrations were 150, 100, 75 e 100 mg L⁻¹ for MS-222, benzocaine, clove oil and menthol, respectively.

Keywords: MS-222, clove oil, menthol, benzocaine, natural anesthetics, handling, deep anesthesia, aquaculture.

INTRODUÇÃO

Os anestésicos são essenciais para a redução de estresse nos peixes desde atividades de manejo até operações cirúrgicas delicadas. Além disso, são amplamente utilizados em operações rotineiras de piscicultura para imobilizar animais durante o transporte, reprodução, vacinação, coleta de sangue e breve manejo (BARTON; IWAMA, 1991; JEPSEN et al., 2002; KING et al., 2005; SNEDDON, 2012). A eficácia e a segurança dos anestésicos variam entre as espécies de peixes e dependem de fatores ambientais e intrínsecos aos peixes (HOUSTON; WOODS, 1976; STRANGE; SCHRECK, 1978; MASSEE et al., 1995; RIBEIRO et al., 2015a).

Entre os atributos desejáveis dos anestésicos são citados a não toxicidade para peixes e humanos, a rápida indução e recuperação, sem alterações fisiológicas adversas, rápida depuração, alta solubilidade em água, estável em condições normais (luz, calor), não espumante, fácil aquisição e baixo custo (ROUBACH; GOMES, 2001; ROSS; ROSS, 2008).

A tricaína metano sulfonato (TMS, MS-222) e a benzocaína são anestésicos sintéticos eficazes na anestesia de peixe. No entanto, apenas o MS-222 é aprovado pela *Food and Drug Administration* para uso em peixes de consumo, mas os peixes expostos ao fármaco são mantidos por um mínimo de 21 dias antes do consumo humano (WOODY et al., 2002). O MS-222 e a benzocaína foram utilizados com sucesso em espécies de peixes marinhos e de água doce, isto é, juvenis de bacalhau do Atlântico *Gadus morhua* (ZAHN et al., 2009), tambor *Sciaenops ocellatus* (THOMAS; ROBERTSON, 1991), linguado *Solea senegalensis* (WEBER et al., 2009), carpa comum *Cyprinus carpio* (SMIT et al., 1979), truta-arco-íris *Oncorhynchus mykiss* (WEDEMEYER, 1970; PIRHONEN; SCHRECK, 2003). Para as espécies tropicais, os anestésicos foram utilizados com sucesso para juvenis de tilápias *Sarotherodon mossambicus* (SMIT et al., 1979), acará bandeira *Pterophyllum scalare* (MITJANA et al., 2014), larvas e juvenis de pacamã *Lophiosilurus alexandri* (RIBEIRO et al., 2015b), entre outras.

O óleo de cravo e o mentol estão entre os principais anestésicos naturais da aquicultura. O eugenol é um produto natural obtido a partir da destilação de folhas, caules e raízes do extrato de óleo de cravo (*Eugenia caryophyllata*) (INOUE; MORAES, 2007). O mentol é um óleo essencial extraído das plantas do gênero *Mentha* (PATEL et al., 2007). A eficiência do óleo de cravo foi observada em diversas espécies, como a truta arco íris *Oncorhynchus mykiss* (ANDERSON et al., 1997; KEENE et al., 1998), pacamã *Lophiosilurus*

alexandri (RIBEIRO et al., 2013), tilápia do Nilo *Oreochromis niloticus* (VIDAL et al., 2008, SIMÕES; GOMES, 2009; RIBEIRO et al., 2015b), matrinxã *Brycon cephalus* (BARBOSA et al., 2007; VIDAL et al., 2007); pacu *Piaractus mesopotamicus* (GONÇALVES et al., 2008), jundiá *Rhamdia quelen* (CUNHA et al., 2010; GOMES et al., 2011), Robalo Peva *Centropomus parallelus* (SOUZA et al., 2012), tambaqui *Colossoma macropomum* (FAÇANHA; GOMES, 2005) e dourado *Salminus brasiliensis* (PÁDUA et al., 2010).

Existem várias espécies denominadas lambari, o mais comum e estudado é a lambari-do-rabo amarelo *Astyanax altiparanae*, com informações sobre alimentação e nutrição (HAYASHI et al., 2004; MEURER et al., 2005; FERREIRA et al., 2016), reprodução (FELIZARDO et al., 2012), fisiologia (SALARO et al., 2015), sistema de produção sustentável (FONSECA et al., 2017) e manejo (PEREIRA-DA-SILVA et al., 2009). No entanto, as informações sobre a produção de outras espécies de lambari, como o lambari bocarra *Oligosarcus argenteus* são escassas e este estudo traz novas considerações para diminuir o estresse de manejo na sua produção.

O. argenteus é uma espécie de importância na ictiofauna brasileira (MATTA et al., 2009; CARMASSI et al., 2011; MARQUES et al., 2013), com o potencial para lambaricultura (SILVA et al., 1994; YASUI; ANDRADE, 2003); no entanto, há informações limitadas para completar o pacote tecnológico de sua produção. Desta forma, nosso estudo teve como objetivo melhorar o conhecimento sobre a anestesia de *O. argenteus* avaliando a eficácia da triclaína, benzocaína, óleo de cravo e mentol como anestésicos. Além disso, os resultados colaborarão com a construção de pacotes tecnológicos para a lambaricultura.

MATERIAL E MÉTODOS

Os *O. argenteus* foram adquiridos em piscicultura comercial e transportados de carro para as instalações do laboratório da Unidade Didática de Pesquisa e Produção de Peixes de Cordeiro (UDPPPC), RJ, Brasil. Adultos de *O. argenteus*, 300 animais, com peso médio de $11,3 \pm 3,3$ g e comprimento total médio de $10,2 \pm 1,1$ cm foram utilizados para indução por triclaína, benzocaína, mentol e óleo de cravo. Os *O. argenteus* foram aclimatados por um período de 30 dias em dois sistemas de recirculação, munidos de sistema de aeração e filtro físico e biológico, cada sistema com o conjunto de 5 aquários e capacidade nominal de cada aquário de 80 litros, volume total por sistema de 550L e densidade de 3 g/L.

Os peixes foram alimentados três vezes ao dia, às 8, 12 e 17 horas, com dieta comercial contendo 400 g de proteína kg^{-1} , 350 mg kg^{-1} de vitamina C, 80 g de extrato etéreo

kg^{-1} e 100 g de umidade kg^{-1} (os níveis de garantia disponibilizados pelo fabricante). As unidades experimentais foram sifonadas antes da primeira e após a última alimentação para a retirada de resíduos sólidos. A temperatura da água foi mantida a $25,2 \pm 1,5$ °C, o oxigênio dissolvido e saturado de $6,2 \pm 0,7$ mg L^{-1} e $74,3 \pm 8,6$, respectivamente, pH $7,6 \pm 0,3$, condutividade elétrica $0,20 \pm 0,04$ $\mu\text{S cm}^{-1}$, sólidos dissolvidos totais $0,10 \pm 0,02$ ppt e nitrogênio amoniacal ($\text{NH}_3\text{-N}$) $0,20 \pm 0,04$ mg L^{-1} . O monitoramento físico e químico da água foi realizado com o modelo/equipamento HI83203-01/*Hanna Photometer*, o oxigênio HI9146-04/*Hanna* e múltiplo parâmetro Combo HI98130/*Hanna*.

Os experimentos foram realizados em delineamento inteiramente casualizado, nas respectivas concentrações de tricaína (25, 50, 75, 100, 125, 150 e 175 mg L^{-1}) benzocaína (25, 50, 75, 100 e 125 mg de L^{-1}), óleo de cravo (25, 50, 75, 100 e 125 mg L^{-1}) e mentol (25, 50, 75, 100 e 125 mg L^{-1}). Foram utilizados dez peixes escolhidos aleatoriamente para cada concentração, cada peixe foi considerado como unidade experimental. Tricaína (Sigma Aldrich®, WXBB5166V) foi tamponado em bicarbonato de sódio (NaHCO_3), como uma solução de proporção 1:2 na água para a solução estoque. A benzocaína (Sigma Aldrich®, SLBH1225V), óleo de cravo (Escamaforte®) e mentol (CRQ-1006310100) foram primeiramente diluídas (1:10) em etanol 98,8%, de modo a reduzir o seu carácter hidrofóbico e posteriormente adicionadas em unidades experimentais de acordo com as concentrações pré-determinadas. A alimentação dos peixes foi suspensa por um período de vinte e quatro horas antes do procedimento anestésico. A hiperatividade dos peixes submetidos à imersão de um anestésico não deve ser atribuída ao solvente etanol ou ao tampão de bicarbonato de sódio (NaHCO_3). Portanto, os animais foram submetidos a essas soluções químicas para avaliar uma possível hiperatividade.

Para o teste de indução (banho anestésico) e a recuperação da anestesia, um peixe por vez era capturado aleatoriamente e transportado para o recipiente de quatro litros que continha a concentração de anestesia a ser testada. Os critérios de avaliação dos estágios de indução e recuperação após exposição à anestesia são apresentados na Tabela 1 (HIKASA et al., 1986; ROSS; ROSS, 2008). Quando os peixes atingiam o último estágio de anestesia foram removidos e realizados a biometria, a pesagem (modelo BL320H escala Shimatzu) e a medição (comprimento total com uma régua). Os procedimentos foram realizados de modo a simular as condições reais de manejo na piscicultura. O procedimento de recuperação ocorreu em recipiente de mesmo volume (quatro litros) isento do fármaco. Após os experimentos, os peixes de cada tratamento e suas respectivas repetições foram reunidos e mantidos no sistema

de água recirculante, separados em aquários de volume útil de 80L, em cada concentração e fármaco utilizados. Posteriormente, foram observados as taxas de sobrevivência e o tempo de retorno ao apetite em até 96 h. Todos os procedimentos foram realizados de acordo com as práticas internacionais de uso e cuidado dos animais sob o controle de um Comitê interno da Fundação Instituto de Pesca do Estado do Rio de Janeiro - Fiperj, Brasil (protocolo: 003/2017).

Tabela 1. Critérios de indução e recuperação da anestesia, utilizados para determinar a eficácia da tricaína, benzocaína, óleo de cravo e mentol como anestésico em *O. argenteus*.

Estágios de indução	Comportamentos observados
Pré-indução	Natação e movimentos operculares normais.
I	Aumento pronunciado dos movimentos de natação de um lado para o outro, sem a perda de equilíbrio.
II	Perda parcial de equilíbrio e natação errática.
III	Anestesia profunda: perda total do equilíbrio, ausência de natação, redução de movimentos operculares e resposta apenas aos estímulos táteis intensos.
IV	Anestesia cirúrgica: movimentos operculares lentos e irregulares e perda total de reação aos estímulos táteis.
Estágios de recuperação	
I	Aumento dos movimentos operculares e início da movimentação das nadadeiras.
II	Início de natação errática sem estabelecer o equilíbrio.
III	Recuperação parcial do equilíbrio e de natação.
IV	Recuperação completa do equilíbrio, capacidade de nado e movimentos operculares normais.

* Hikasa et al. (1986); Ross; Ross (2008)

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram submetidos à análise estatística de variância e posterior teste *Tukey* para a comparação das médias, sendo processadas no programa *Statistical Analysis System-*

SAS, versão 8.0. Os resultados de tempo de indução e recuperação foram analisados por regressão e obtidas as funções com melhor ajuste aos dados.

RESULTADOS

Os resultados dos parâmetros de qualidade da água são apresentados na Tabela 2. A temperatura variou de 24,5 a 25,8 °C entre os anestésicos. O pH, a condutividade elétrica e os sólidos dissolvidos totais permaneceram entre 7,3 a 7,9; 0,15 a 0,25 mS cm⁻¹ e 0,08 a 0,13 ppt, respectivamente. O oxigênio dissolvido e saturado permaneceram entre 6,7 a 7,1 mg L⁻¹ e 79,4 a 81,9%. Os compostos nitrogenados inorgânicos, tais como amônia, nitrito e nitrato foram analisados e apresentaram valores entre 0,19 a 0,24 mg L⁻¹; 1,0 a 2,0 mg L⁻¹ e 5,4 a 11,2 mg L⁻¹, respectivamente. O fosfato variou entre 2,0 a 6,4 mg L⁻¹.

Tabela 2. Média dos parâmetros de qualidade da água durante a indução e recuperação da tricaína (MS-222), benzocaína, óleo de cravo e mentol.

Parâmetros	MS-222	Benzocaína	Óleo de Cravo	Mentol
Temperatura (°C)	24.9 ± 0.2	25.8 ± 0.2	25.5 ± 0.2	24.5 ± 0.3
pH	7.4 ± 0.1	7.9 ± 0.1	7.3 ± 0.4	7.9 ± 0.1
Condutividade elétrica (mS/cm)	0.25 ± 0.01	0.18 ± 0.01	0.21 ± 0.02	0.15 ± 0.01
Sólidos dissolvidos totais (ppt)	0.13 ± 0.01	0.09 ± 0.01	0.11 ± 0.01	0.08 ± 0.01
Oxigênio dissolvido (ppm)	6.7 ± 0.1	7.1 ± 0.4	6.9 ± 0.6	6.9 ± 0.1
Oxigênio saturado (%)	79.4 ± 0.4	82.3 ± 5.4	82.9 ± 8.2	81.9 ± 0.7
Amônia mg L ⁻¹ (NH ₃)	0.22 ± 0.02	0.19 ± 0.02	0.23 ± 0.04	0.24 ± 0.05
Nitrito mg L ⁻¹ (NO ₂ ⁻)	1.0 ± 0.1	1.0 ± 0.1	2.0 ± 0.1	1.0 ± 0.1
Nitrato mg L ⁻¹ (NO ₃ ⁻)	11.2 ± 2.1	6.0 ± 1.0	5.5 ± 0.3	5.4 ± 0.2
Fosfato mg L ⁻¹ (PO ₄ ³⁻)	6.4 ± 1.1	2.8 ± 0.5	5.4 ± 0.8	2.0 ± 0.2

Não foram encontrados efeitos dos anestésicos sobre a mortalidade dos peixes durante os experimentos. Além disso, o peixe exposto ao etanol e a solução com bicarbonato de sódio (NaHCO₃) não apresentaram hiperatividade (Tabela 3).

Em geral, altas concentrações dos anestésicos proporcionaram uma diminuição no tempo para atingir os estágios de anestesia. O MS-222 não foi eficaz em promover a anestesia profunda nas menores concentrações de 25 e 50 mg L⁻¹ durante os primeiros 30 minutos e apenas dois peixes atingiram o estágio IV na concentração de 75 mg de MS-222 L⁻¹. Nas concentrações de 25 e 50 mg de MS-222 L⁻¹, os peixes atingiram apenas o estágio I e o tempo

foi 0,93 e 0,45 min, respectivamente, com diferença estatística entre eles. A concentração de 125 a 175 mg de MS-222 L⁻¹ proporcionaram os menores tempos de indução ($P < 0,05$) neste estágio. No estágio II, os peixes expostos à concentração de 75 mg de MS-222 L⁻¹ apresentaram o maior tempo de indução ($P < 0,05$) e aqueles nas concentrações de 125 a 175 mg de MS-222 L⁻¹ os menores tempos de indução ($P < 0,05$). A anestesia profunda foi alcançada no tempo inferior a 3 min nas concentrações de 100 a 175 mg de MS-222 L⁻¹, sem diferença estatística entre eles (Tabela 3 e 4).

Tabela 3. Número de peixes que atingiram os estágios anestésicos I, II, III e IV de cada fármaco e suas respectivas concentrações durante 30 minutos de observação. Quantitativo de mortalidade durante os experimentos e após 96 h e tempo de retorno ao apetite.

Anestésico	Concentração (mg L ⁻¹)	Estágios de indução				Mortalidade (96 h)	Retorno apetite (h)
		I	II	III	IV		
MS-222	25	10	0	0	0	0	24
	50	10	0	0	0	0	24
	75	10	10	10	2	0	24
	100	10	10	10	10	0	24
	125	10	10	10	10	0	24
	150	10	10	10	10	0	24
	175	10	10	10	10	0	24
Benzocaína	25	10	10	0	0	0	24
	50	10	10	10	10	0	24
	75	10	10	10	10	0	24
	100	10	10	10	10	0	24
	125	10	10	10	10	0	24
Óleo de cravo	25	10	10	10	10	0	24
	50	10	10	10	10	0	24
	75	10	10	10	10	0	24
	100	10	10	10	10	0	24
	125	10	10	10	10	0	24
Mentol	25	10	10	10	3	0	24
	50	10	10	10	10	0	24
	75	10	10	10	10	0	24
	100	10	10	10	10	0	24
	125	10	10	10	10	0	24
Etanol	125	0	0	0	0	0	24
Bicarbonato de sódio	175	0	0	0	0	0	24

A benzocaína na concentração de 25 mg L⁻¹ não foi eficaz em promover a anestesia profunda durante os 30 minutos de exposição ao fármaco. Os peixes expostos a esta concentração mostraram comportamento caracterizado pelo estágio I e II. No estágio I e II, os peixes expostos às concentrações de 75 a 125 mg de benzocaína L⁻¹ proporcionaram os menores tempos de indução ($P < 0,05$). O maior tempo de indução ($P < 0,05$) foi encontrado nos peixes submetidos à concentração de 25 mg de benzocaína L⁻¹. No estágio de anestesia profunda, as concentrações de 75 a 125 mg de benzocaína L⁻¹ proporcionaram os tempos de indução inferiores a 3 min; no entanto, os menores tempos ($P < 0,05$) foram encontrados nas concentrações de 100 e 125 mg de benzocaína L⁻¹. Os peixes expostos na concentração de 50 mg de benzocaína L⁻¹ apresentaram maior tempo de indução ($P < 0,05$) e superior a 6 min (Tabela 3 e 4).

Todas as concentrações testadas com o óleo de cravo foram eficazes em promover a anestesia profunda. Os *O. argenteus* expostos a 125 mg de óleo de cravo L⁻¹ apresentaram o menor tempo ($P < 0,05$) para atingir o estágio I. Concentrações entre 25 a 100 mg de óleo de cravo L⁻¹ não proporcionaram diferença entre os tempos ($P < 0,05$) para atingir o estágio I. No estágio II e III, os peixes expostos nas concentrações de 50 a 125 mg de óleo de cravo L⁻¹ apresentaram os menores tempos ($P < 0,05$), sem diferença estatística entre eles. A concentração de 25 mg de óleo de cravo L⁻¹ proporcionou o maior tempo ($P < 0,05$) para a indução de *O. argenteus* nos estágios II e III (Tabela 3 e 4).

Todas as concentrações testadas com o mentol foram eficazes em promover a anestesia profunda; no entanto, apenas três peixes atingiram o estágio IV na concentração de 25 mg de mentol L⁻¹. A concentração de 25 mg de mentol L⁻¹ proporcionou o maior tempo ($P < 0,05$) para indução nos estágios I, II e III. Os peixes expostos nas concentrações de 50 a 125 mg de mentol L⁻¹ não apresentaram diferença estatística entre os tempos de indução e, foram inferiores ($P < 0,05$) em relação a concentração de 25 mg de mentol L⁻¹ para os estágios I e III. No estágio II não houve diferença estatística entre os tempos de indução nas concentrações de 75 a 125 mg de mentol L⁻¹. Essas concentrações proporcionaram os menores tempos (Tabela 3 e 4).

Os tempos de indução e recuperação de cada anestésico no estágio IV foram expressos em gráficos com suas respectivas equações (Figura 1). Apenas dois peixes atingiram o estágio cirúrgico na concentração de 75 mg de MS-222 L⁻¹; portanto, esses dados foram excluídos da análise estatística. As maiores concentrações de MS-222, 150 e 175 mg L⁻¹, proporcionam os menores tempos de indução ($P < 0,05$), sem diferença estatística entre eles. Não houve

diferença estatística entre os tempos de recuperação utilizando as concentrações de 100 a 175 mg de MS-222 L⁻¹ (Figura 1).

Tabela 4. Tempo de indução até a anestesia profunda para o *O. argenteus* exposto a diferentes concentrações de tricaina (MS-222), benzocaína, óleo de cravo e mentol.

MS-222		Indução (min)	
Conc. (mg L⁻¹)	Estágio I	Estágio II	Estágio III
25	0.93 ± 0.29 ^a	0.00 ± 0.00 [*]	0.00 ± 0.00 [*]
50	0.45 ± 0.08 ^{bc}	0.00 ± 0.00 [*]	0.00 ± 0.00 [*]
75	0.52 ± 0.12 ^b	2.81 ± 0.40 ^a	14.04 ± 6.54 ^a
100	0.41 ± 0.09 ^{bc}	1.11 ± 0.22 ^b	2.51 ± 0.67 ^b
125	0.31 ± 0.07 ^{cd}	0.90 ± 0.17 ^{bc}	2.92 ± 1.45 ^b
150	0.29 ± 0.12 ^{cd}	0.73 ± 0.19 ^c	1.57 ± 0.31 ^b
175	0.17 ± 0.02 ^d	0.66 ± 0.06 ^c	1.35 ± 0.23 ^b
Benzocaína			
Conc. (mg L⁻¹)	Estágio I	Estágio II	Estágio III
25	0.76 ± 0.10 ^a	10.69 ± 1.37 ^a	0.00 ± 0.00 [*]
50	0.46 ± 0.17 ^b	2.31 ± 0.36 ^b	6.27 ± 1.21 ^a
75	0.26 ± 0.05 ^c	0.89 ± 0.14 ^c	1.75 ± 0.47 ^b
100	0.19 ± 0.03 ^c	0.57 ± 0.10 ^c	1.06 ± 0.19 ^{bc}
125	0.16 ± 0.03 ^c	0.49 ± 0.10 ^c	0.76 ± 0.16 ^c
Óleo de cravo			
Conc. (mg L⁻¹)	Estágio I	Estágio II	Estágio III
25	0.32 ± 0.10 ^{ab}	1.73 ± 0.54 ^a	4.15 ± 1.26 ^a
50	0.30 ± 0.04 ^{ab}	0.71 ± 0.17 ^b	1.11 ± 0.24 ^b
75	0.34 ± 0.09 ^a	0.66 ± 0.14 ^b	1.12 ± 0.19 ^b
100	0.32 ± 0.08 ^{ab}	0.59 ± 0.08 ^b	0.92 ± 0.17 ^b
125	0.24 ± 0.04 ^b	0.47 ± 0.10 ^b	0.80 ± 0.23 ^b
Mentol			
Conc. (mg L⁻¹)	Estágio I	Estágio II	Estágio III
25	0.60 ± 0.20 ^a	2.91 ± 0.20 ^a	8.38 ± 1.60 ^a
50	0.36 ± 0.12 ^b	0.84 ± 0.16 ^b	1.95 ± 0.54 ^b
75	0.31 ± 0.05 ^b	0.65 ± 0.12 ^c	1.13 ± 0.20 ^b
100	0.33 ± 0.04 ^b	0.63 ± 0.08 ^c	1.09 ± 0.15 ^b
125	0.29 ± 0.08 ^b	0.66 ± 0.08 ^c	1.27 ± 0.21 ^b

* Os peixes foram avaliados em até 30 min e não atingiram o estágio da anestesia.

O maior tempo de indução ($P < 0,05$) no estágio IV foi com 50 mg de benzocaína L⁻¹, cerca de 14 min. As concentrações 100 e 125 mg de benzocaína L⁻¹ proporcionaram os menores tempos de indução ($P < 0,05$), sem diferença estatística entre eles. O tempo de recuperação foi inferior ($P < 0,05$) na concentração de 125 mg de benzocaína L⁻¹ e maiores ($P < 0,05$) nas concentrações de 75 e 100 mg de benzocaína L⁻¹, contudo, a concentração de 50 mg de benzocaína L⁻¹ não apresentou diferença estatística entre as concentrações (Figura 1).

O óleo de cravo foi eficaz e promoveu o estágio IV de anestesia em todas as concentrações. A concentração de 25 mg de óleo de cravo-óleo L⁻¹ proporcionou o maior tempo de indução ($P < 0,05$), as concentrações de 75 a 125 mg de óleo de cravo L⁻¹ apresentaram tempos inferiores ou iguais a 3 min, com os menores tempos ($P < 0,05$) e sem diferença estatística entre os tratamentos. Não houve diferença estatística nos tempos de recuperação nas concentrações de 25 a 125 mg de óleo de cravo-óleo L⁻¹ (Figura 1).

A concentração de 50 mg de mentol L⁻¹ proporcionou o maior tempo de indução no estágio cirúrgico (IV) ($P < 0,05$) e as concentrações de 100 e 125 mg de mentol L⁻¹ apresentaram os menores tempos ($P < 0,05$). Os peixes anestesiados com 75 mg de mentol L⁻¹ apresentaram o valor intermediário ($P < 0,05$), com a média de 3,66 min. Não houve diferença estatística nos tempos de recuperação nas concentrações de 50 a 125 mg de mentol L⁻¹ e o maior tempo de recuperação ($P < 0,05$) foi encontrado na concentração 50 mg de mentol L⁻¹, com a média de 6,07 min. (Figura 1). Apenas dois peixes atingiram o estágio cirúrgico com 25 mg de mentol L⁻¹ e esses dados foram excluídos da análise estatística.

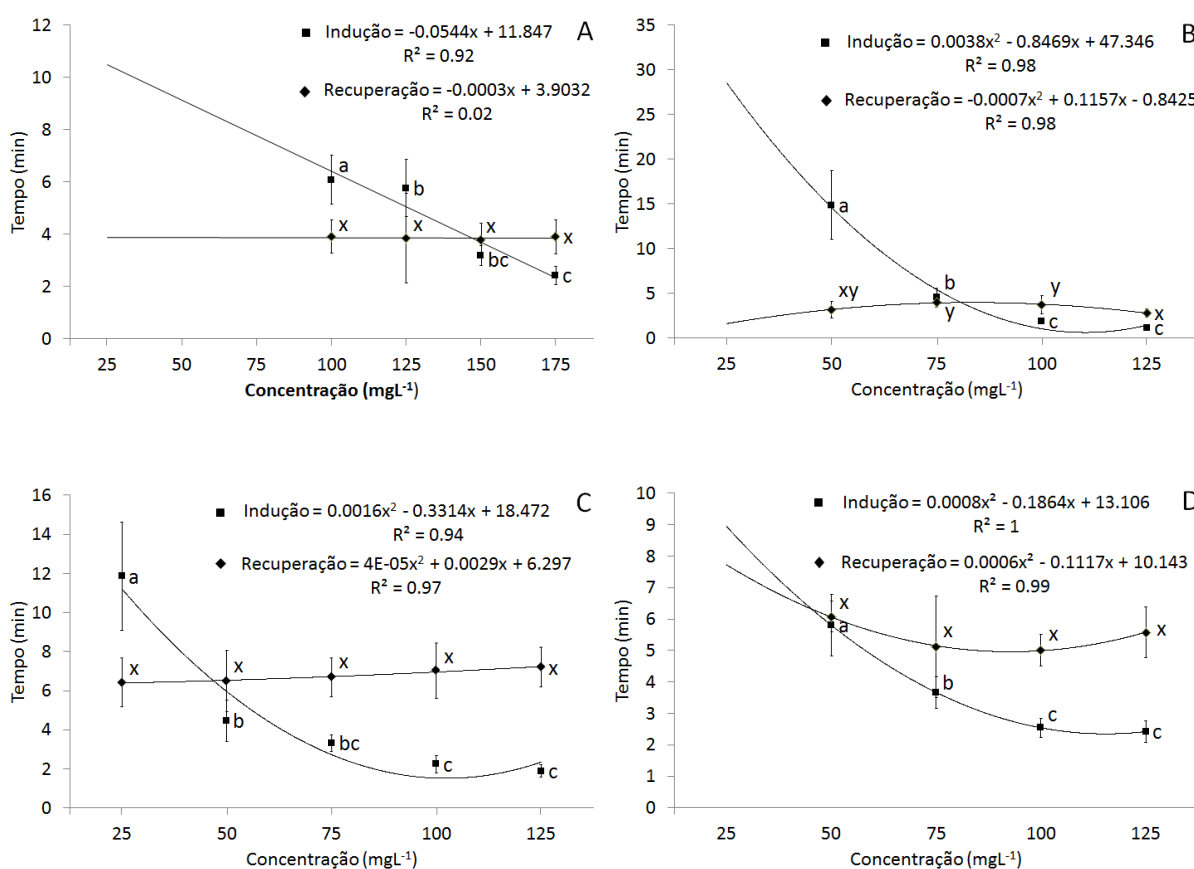


Figura 1. Curvas de regressão ajustadas aos tempos de indução e recuperação à anestesia cirúrgica em adultos de *O. argenteus* expostos às diferentes concentrações de tricaina (A), benzocaína (B), óleo de cravo (C) e mentol (D).

DISCUSSÃO

Os valores registrados para os indicadores de qualidade da água permaneceram na faixa considerada adequada à manutenção das espécies de peixes tropicais (ARANA, 2004). O etanol e a solução de bicarbonato de sódio (NaHCO_3) utilizados como solvente e tampão dos anestésicos, respectivamente, quando aplicados isoladamente não proporcionaram alterações nas respostas dos peixes, como também observado para o etanol no jundiá *Rhamdia quelen* (SILVA et al., 2013) e no lambari do rabo amarelo *A. altiparanae* (PEREIRA-DA-SILVA et al., 2014). A hiperatividade observada em peixes submetidos à imersão em uma solução anestésica não deve ser atribuída ao solvente, ou seja, solução de etanol e bicarbonato de sódio (NaHCO_3), mas ao próprio anestésico (GRUSH et al., 2004; VIDAL et al., 2008).

De acordo com Marking; Meyer (1985) e Ross; Ross (2008), a anestesia em peixes deve ser induzida rapidamente para o estágio apropriado e alcançado em menos de 3 min, a fim de evitar o estresse e o comportamento hiperativo. O tempo de recuperação não deve ser superior a 5 minutos após a transferência em água limpa, com prazo crítico de retorno de 10 min.

O estágio de anestesia profunda permite um procedimento rápido e não invasivo, garantindo a segurança das espécies, sem adição da ventilação e o estágio de anestesia cirúrgica é indicado no procedimento invasivo, como implantes cirúrgicos, aplicação de hormônios, microplaquetas, entre outros (NEIFFER; STAMPER, 2009; SNEDDON, 2012).

As concentrações recomendadas para o estágio III (anestesia profunda), sem promover a recuperação prolongada e o colapso medular foram de 100 e 75 mg L⁻¹ para o MS-222 e a benzocaína, respectivamente, e 50 mg L⁻¹ para o óleo de cravo e o mentol. No estágio IV (anestesia cirúrgica), as concentrações recomendadas foram 150, 100, 75 e 100 mg L⁻¹ para o MS-222, a benzocaína, o óleo de cravo e o mentol, respectivamente.

A concentração e a eficácia necessárias para a indução podem variar em relação aos parâmetros de qualidade da água e de fatores intraespecíficos (e.g. idade, gênero, comprimento, peso, etc). (WALSH; PEASE, 2002; WOODY et al., 2002; GOMES et al., 2011; RIBEIRO et al., 2015b; READMAN et al., 2017). Existem poucos estudos sobre os anestésicos e concentrações adequadas para adultos e, dessa forma, nosso estudo forneceu informações essenciais para reduzir o estresse durante o manejo de adultos de *O. argenteus*, peixe neotropical. As informações para a diminuição do estresse durante o manejo de peixes na fase adulta são importantes para evitar riscos ao trabalhador, pois, geralmente o peixe

adulto é grande o que dificulta o seu manejo, além disso, o estresse pode afetar sua fisiologia reprodutiva com influência direta sobre gametas e progênes (SCHRECK et al., 2001).

Embora o *O. argenteus* seja pequeno na fase adulta, cerca de 10 g, as espécies apresentam alto grau de hiperatividade e a anestesia pode reduzir o estresse, garantindo o desempenho reprodutivo e o bem-estar dos animais. Holcomb et al. (2004) anestesiaram com o MS-222 e o óleo de cravo as trutas arco-íris *Oncorhynchus mykiss* e o esturjão *Acipenser transmontanus* durante o manejo na reprodução. Os autores não encontraram efeitos negativos sobre a fertilização do ovo, motilidade espermática e a sobrevivência dos embriões.

O MS-222 é o anestésico sintético utilizado mundialmente (KREIBERG, 2003; ROMBOUGH, 2007; SNEDDON, 2012; TÓPICO POPOVIC et al., 2012). No entanto, este anestésico acidifica o meio quando dissolvido diretamente na água, com pH entre 2,8 a 3,9. Contudo, a eficiência do MS-222 foi melhorada quando o pH foi neutralizado, reduzindo o tempo de indução. Além disso, o pH ácido pode ocasionar distúrbios fisiológicos nos peixes (OHR, 1976; IWAMA, 1989). Considerado o único anestésico aprovado para aplicação em peixes e posterior consumo humano pela *Food and Drug Administration* (FDA, 1997; CARTER et al., 2011; DELBON; RANZANI-PAIVA, 2012). Este anestésico foi utilizado com eficiência para diminuir o estresse durante o manejo de truta arco-íris *Oncorhynchus mykiss* (WEDEMEYER, 1970; WAGNER et al., 2003), esturjão do Atlântico *Acipenser oxyrinchus oxyrinchus* (MATSCHE, 2011), *black sea bass Centropristis striata* (KING et al., 2005) e para as espécies tropicais acará bandeira *Pterophyllum scalare* (MITJANA et al., 2014) e lambari do rabo amarelo *A. altiparanae* (OSTRENSKY et al., 2015). O esturjão do Atlântico foi anestesiado com a concentração efetiva de 85 mg de MS-222 L⁻¹ que promoveu a redução de estresse (MATSCHE, 2011). Para o *O. argenteus*, o MS-222 foi efetivo nas concentrações de 100 e 150 mg L⁻¹ nos estágios III (profundo) e IV (cirúrgico), respectivamente. Estes resultados foram próximos ao observado em outras espécies de lambari *A. altiparanae*, que mostraram ser sensíveis com 90 mg de MS-222 L⁻¹ para atingir a anestesia profunda (OSTRENSKY et al., 2015). No entanto, os tempos de indução e recuperação foram superiores para o *A. altiparanae* (> 8,1 cm), em relação a *O. argenteus* com 10,2 cm de comprimento total.

A benzocaína foi o outro anestésico sintético avaliado neste estudo e as concentrações de 75 e 100 mg L⁻¹ se mostraram eficientes para induzir o *O. argenteus* na anestesia profunda (1,75 min) e cirúrgica (1,92 min), respectivamente. Entre as vantagens da benzocaína são citadas o baixo custo, a sua eficácia e a boa margem de segurança para peixes (GILDERHUS;

MARKING, 1987, GILDERHUS 1989, 1990). Na fase de desova do salmão-rei *Oncorhynchus tshawytscha* e salmão do Atlântico *Salmo salar*, a concentração de 30 mg de benzocaína L⁻¹ foi eficaz, com margens de segurança estreitas (GILDERHUS, 1990). O lambari do rabo amarelo *A. altiparanae*, com 3,5 g, atingiu a anestesia profunda com sucesso na concentração de 100 mg de benzocaína L⁻¹ em 0,76 min, sem mortalidade e alterações nos parâmetros de qualidade da água (GIMBO et al., 2008). Este tempo foi inferior ao observado para *O. argenteus*. Os juvenis de tambaqui, peso médio de 9,3 g foram expostos a 50-350 mg de benzocaína L⁻¹ e as concentrações superiores a 100 mg L⁻¹ induziram a perda total de equilíbrio em menos de 3 min. Em baixa concentração (50 mg L⁻¹) foi necessário um tempo relativamente longo (7,37 min) para induzir o movimento opercular mínimo, no entanto, o tempo de recuperação foi rápido de 2,61 min (GOMES et al., 2001). A concentração recomendada de benzocaína obtida neste estudo foi próxima ao observado por Gimbo et al. (2008), sem mortalidade para *O. argenteus* após exposição anestésica.

Os adultos de salmão-vermelho *Oncorhynchus nerka* foram expostos ao banho anestésico de óleo de cravo e determinado a concentração efetiva (WOODY et al., 2002). Os autores encontraram dependência entre o tempo de indução e o tamanho do peixe nas concentrações de 20, 50 e 80 mg de óleo de cravo L⁻¹. O tempo de recuperação diferiu em função da concentração de óleo de cravo, mas não do tamanho do peixe. A concentração de 50 mg de óleo de cravo L⁻¹ foi recomendada para anestésiar *O. nerka* de 400 a 550 mm de comprimento. Para os juvenis de lambari do rabo amarelo *A. altiparanae*, o óleo de cravo teve efeito anestésico na concentração de 50 mg L⁻¹, esta concentração foi efetiva e segura para induzir a anestesia profunda em até 1,5 minutos e na anestesia cirúrgica em até 3,3 minutos de exposição (PEREIRA-DA-SILVA et al., 2009). Na recuperação, os autores descobriram que o tempo de recuperação aumentou quadraticamente com acréscimo da concentração (resposta máxima estimada em 7,1 minutos). Para o *O. argenteus* a anestesia profunda e cirúrgica, com o óleo de cravo foi efetivo em concentrações distintas de 50 e 75 mg L⁻¹, com os tempos de indução de 1,11 e 3,31 min, respectivamente. Embora esses tempos tenham sido próximos ao encontrado para o lambari do rabo amarelo *A. altiparanae* de 0,6 g e realizados na temperatura de 22 °C (PEREIRA-DA-SILVA et al., 2009), houve diferenças de tamanho entre as espécies de peixes, mostrando, mais uma vez que a eficiência da anestesia pode variar em função da espécie, tamanho e outras características. Roubach et al. (2005) mencionaram que geralmente os juvenis em relação aos adultos possuem uma maior superfície branquial em relação ao peso corporal e pode implicar na indução da anestesia em menor concentração.

Neste caso, a mesma concentração pode induzir e recuperar em tempos diferentes para as classes de tamanho, sendo lentamente em adultos, devido à maior capacidade de retenção de fármaco em adultos e maior taxa metabólica em juvenis.

A eficácia do mentol como anestésico para o *O. argenteus* foi evidenciada neste estudo, os tempos de indução para anestesia profunda e cirúrgica ocorreram em 2,0 e 2,5 min com 50 e 100 mg de mentol L⁻¹, respectivamente, com os tempos de recuperação entre 5,0 e 6,0 min, dentro dos limites recomendados na literatura. Além disso, o aumento da concentração de mentol proporcionou diminuição no tempo de indução. A correlação inversa semelhante ao encontrado neste trabalho, entre a concentração e o tempo de indução com o mentol foram observados em *C. macropomum* (FAÇANHA; GOMES 2005), *O. niloticus* (SIMÕES; GOMES, 2009; MELLO et al., 2012), *S. brasiliensis* (PÁDUA et al., 2010) e *C. paralelus* (SOUZA et al., 2012). Nossos resultados foram diferentes dos obtidos para o lambari do rabo amarelo *A. altiparanae* que apresentaram ocorrência de mortalidade de 20% e 80% nas concentrações de 100 e 150 mg L⁻¹ respectivamente (PEREIRA-DA-SILVA et al., 2014), sugerindo que as respostas são específicas da espécie.

O tempo de recuperação de *O. argenteus* com 100 mg de mentol L⁻¹ foi de 5,02 minutos após a anestesia cirúrgica, este tempo foi superior ao encontrado para as espécies anestesiadas com o MS-222. Para Turina et al. (2006) o mentol é um componente lipofílico capaz de interagir com as membranas. Esta característica permite inferir que o mentol pode se comportar de forma semelhante ao óleo de cravo no organismo, caracterizado pelo tempo de recuperação prolongado, atribuído aos anestésicos naturais de óleos essenciais de plantas. Além disso, as diferenças farmacocinéticas e farmacodinâmicas nos peixes podem ser influenciadas por fatores biológicos como idade, sexo, estágio da vida, peso corporal, taxa de crescimento, composição corporal, condição fisiológica e estado de saúde, além de fatores ambientais como a temperatura da água, salinidade, pH e nível de oxigênio (ZAHL, 2012).

Entre os anestésicos avaliados, o óleo de cravo apresentou a menor concentração efetiva para induzir o estágio III e IV da anestesia e, por outro lado, o MS-222 induzido com a maior concentração. Para a recuperação houve resultados inversos e os peixes anestesiados com MS-222 apresentaram rápida recuperação. Esta diferença pode ser atribuída aos processos de absorção e eliminação, que são determinados pela taxa de difusão através do epitélio branquial e depende principalmente da solubilidade, ionização e polaridade dos lipídios (ZAHL, 2012). Para Kiessling et al. (2009), benzocaína e isoeugenol apresentaram maior solubilidade lipídica em relação ao MS-222, que apresenta características hidrofílicas, o

que facilita a passagem desses produtos químicos para a barreira hematoencefálica com efeito rápido no Sistema Nervoso Central. No entanto, ambos os anestésicos podem ser depositados em tecido adiposo ou em componentes lipídicos, o que pode resultar na eliminação prolongada.

O anestésico tem sido utilizado para reduzir o estresse crônico associado ao manejo sucessivo, exposição aérea e a manipulação inadequada, as concentrações adequadas podem reduzir o estresse do peixe. Em geral, os anestésicos podem induzir ao estresse agudo, como observado pelo aumento do nível de cortisol, hipoxia, hipercapnia, acidose respiratória e hiperglicemia (SLADKY et al., 2001) e o uso incorreto destes fármacos podem induzir ao colapso da medula espinhal. Concentrações adequadas de anestésicos proporcionam o retorno a níveis basais do perfil hematológico após 24 horas de exposição e sem ocorrência de mortalidade. Neste estudo, as concentrações recomendadas para cada anestésico em adultos de *O. argenteus* não promoveram mortalidades após 96h de exposição. Além disso, os peixes apresentaram retorno ao apetite dentro de 24h.

CONCLUSÃO

A tricaína, a benzocaína, o mentol e o óleo de cravo são anestésicos seguros e eficientes para o breve manejo em adultos de *O. argenteus*. Os anestésicos naturais apresentam as menores concentrações para indução à anestesia profunda, com preços acessíveis e práticos para uso em larga escala.

As concentrações recomendadas para anestesia profunda – anestesia cirúrgica para os anestésicos avaliados foram 100-150, 75-100, 50-75 e 50-100 mg L⁻¹ para MS-222, benzocaína, óleo de cravo e mentol, respectivamente.

REFERÊNCIAS

- ANDERSON, W.G.; MCKINLEY, R.S.; COLAVECCHIA, M. 1997. The use of clove oil as an anesthetic for rainbow trout and its effects on swimming performance. *North American journal of fisheries management* 17:301-307.
- ARANA, L.V. 2004. Fundamentos de aquicultura. Florianópolis: Editora Universidade Federal de Santa Catarina.
- BARBOSA, L.G.; MORAES, G.; INOUE, L.A.K.A. 2007. Resposta metabólicas do matrinxã submetido a banhos anestésicos de eugenol. *Acta Scientiarum Biological Science* 29(3): 255-260.
- BARTON, B.A.; IWAMA, G.K. 1991. Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of corticosteroids. *Annual Review of Fish Diseases*, pp. 3-26.
- CARMASSI, A.L.; RONDINELI, G.R.; GOMIERO, L.M.; BRAGA, F.M.S. 2011. Crescimento e mortalidade de *Oligosarcus hepsetus* (Cuvier, 1829) (Characiformes, Characidae) no Parque Estadual da Serra do Mar, Núcleo Santa Virgínia, São Paulo, Brasil. *Biota Neotrop.* 11:39-43.
- CARTER K.; WOODLEY C.; BROWN R. 2011. A review of tricaine methanesulfonate for anesthesia of fish. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 21, 51–59.
- CUNHA, M.A.; ZEPPENFELD, C.C.; GARCIA, L.O.; LORO, V.L.; FONSECA, M.B.; EMANUELLI, T.; VEECK, A.P.L.; COPATTI, C.E.; BALDISSEROTTO, B. 2010. Anesthesia of silver catfish with eugenol: time of induction, cortisol response and sensory analysis of fillet. *Ciência rural* 40(10):2107-2114.
- DELBON, M.C.; RANZANI-PAIVA, M.J.T. 2012. Eugenol em juvenis de tilápia do nilo: concentrações e administrações sucessivas. *Bol. do Instituto de Pesca, São Paulo* 38, 43–52.
- FAÇANHA, M.F.; GOMES, L.C. 2005. A eficácia do mentol como anestésico para tambaqui (*Colossoma macropomum*, Characiformes: Characidae). *Acta amazonica* 35(1):71-75.
- FDA (1997) ANADA 200-226 Tricaine-S- Original approval. U.S Food and Drug Administration, Hampton, VA, USA.
- FELIZARDO, V.O.; MURGAS, L.D.S.; ANDRADE, E.S.; LÓPEZ, P.A.; FREITAS, R.T.F.; FERREIRA, M.R. 2012. Effect of timing of hormonal induction on reproductive activity in lambari (*Astyanax bimaculatus*) *Theriogenology*. 77:1570–1574.
- FERREIRA, P.M.F.; CALDAS, D.W.; SALARO, A.L.; SARTORI, S.S.R.; OLIVEIRA, J.M.; CARDOSO, A.J.S.; ZUANON, J.A.S. 2016. Intestinal and liver morphometry of the Yellow Tail Tetra (*Astyanax altiparanae*) fed with oregano oil. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*. 88: 911-922.

FONSECA, T.; COSTA-PIERCE, B.A.; VALENTI, W.C. 2017. Lambari aquaculture as a means for the sustainable development of rural communities in Brazil. *Reviews in Fisheries Science & Aquaculture*, DOI: 10.1080/23308249.2017.1320647.

GILDERHUS, P.A. 1989. Efficacy of benzocaine as an anesthetic for salmonid fishes. *North American Journal of Fisheries Management* 9: 150-153.

GILDERHUS, P.A. 1990. Benzocaine as a fish anesthetic: efficacy and safety for spawning-phase salmon. *Progressive Fish-Culturist* 52: 189-191.

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

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

GOMES, D.P.; CHAVES, B.W.C.; BECKER, A.G.; BALDISSEROTTO, B. 2011. Water parameters affect anaesthesia induced by eugenol in silver catfish, *Rhamdia quelen*. *Aquaculture Research* 42:878-886.

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

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

GRUSH J.; NOAKES D.L.G.; MOCCIA R.D. 2004. The efficacy of clove oil as an anesthetic for the zebrafish, *Danio rerio* (Hamilton). *Zebrafish* 1, 46–53.

HAYASHI, C.; MEURER, F.; BOSCOLO, W.R.; LACERDA, C.H.F.; KAVATA, L.C.B. 2004. Frequência de Arraçoamento para Alevinos de Lambari do rabo amarelo (*Astyanax bimaculatus*). *R. Bras. Zootec.*, v.33, n.1, p.21-26.

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

HOLCOMB, M.; WOOLSEY, J.; CLOUD, J.G.; INGERMANN, R.L., 2004. Effects of clove oil, tricaine, and CO₂ on gamete quality insteelhead and white sturgeon. *N. Am. J. Aquacult.* 66, 228–233.

HOUSTON, A.H.; WOODS, R.J. 1976. Influence of temperature upon tricaine methane sulphonate uptake and induction of anesthesia in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Comp. Biochem. Physiol.* 54C: 1-6.

INOUE, L.A.K.A.; MORAES, G. 2007. Óleo de cravo: Um anestésico alternativo para o manejo de peixes. Embrapa Amazônia Ocidental. Manaus-AM. Available at:

<https://www.embrapa.br/web/mobile/publicacoes/-/publicacao/681655/oleo-de-cravo-um-anestesico-alternativo-para-o-manejo-de-peixes>. Accessed on: Aug. 22, 2017.

IWAMA G.K., MCGEER J.C.; PAWLUK M.P. 1989. The effects of five fish anaesthetics on acid-base balance, hematocrit, blood gases, cortisol, and adrenaline in rainbow trout. *Canadian Journal of Zoology* 67, 2065–2073.

JEPSEN, N.; KOED, A.; THORSTAD, E.B.; BARAS, E. 2002. Surgical implantation of telemetry transmitters in fish: how much have we learned?. *Hydrobiologia* 483: 239–248.

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

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

KING V, W.; HOOPER, B.; HILLSGROVE, S.; BENTON, C.; BERLINSKY, D.L. 2005. The use of clove oil, metomidate, tricaine methanesulphonate and 2-phenoxyethanol for inducing anaesthesia and their effect on the cortisol stress response in black sea bass (*Centropristis striata* L.) *Aquaculture research*. 36, 1442-1449.

KREIBERG H. 2003. Stress and Anesthesia (ed. by G.K. Ostrander). Academic Press, London, UK.

MARKING, L.L.; MEYER, F.P. 1985. Are better anesthetics needed in fisheries? *Fisheries* 10, 2–5.

MARQUES, B.S.; BELEI, F.; SAMPAIO, W.M.S. 2013. Ictiofauna do baixo rio Manhuaçu (Bacia do médio rio Doce). *Evolução e Conservação da Biodiversidade*. 4: 32-41.

MASSEE, K.C.; RUST, M.B.; HARDY, R.W.; STICKNEY, R.R. 1995. The effectiveness of tricaine, quinaldine sulfate and metomidate as anesthetics for larval fish. *Aquac.* 134. 351-359.

MATSCHE, M.A. 2011. Evaluation of tricaine methanesulfonate (MS-222) as a surgical anesthetic for Atlantic Sturgeon *Acipenser oxyrinchus oxyrinchus*. *J. Appl. Ichth.* 27: 600–610.

MATTA, S. L. P.; GOMES, M. L. M; ANDRADE, D. R. Reproductive biology of *Oligosarcus argenteus* (Gunther, 1864) adult males and description of the gonadal maturation stages. *Braz Arch Biol Techn*, v. 52, p. 119–126, 2009.

MELLO R.A., COSTA L., OKAMURA D., ARAÚJO F.G., RIBEIRO P.A.P., CORRÊA F.M.; ROSA P.V. 2012. Avaliação de 2-fenoxietanol e mentol como agentes anestésicos em tilápias. *Boletim do Instituto de Pesca* 38, 53–59.

MEURER, F.; HAYASHI, C.; BOSCOLO, W.R.; KAVATA, L.B.; LACERDA, C.H.F. 2005. Nível de arrazoamento para alevinos de lambari-do-rabo-amarelo (*Astyanax bimaculatus*). *R. Bras. Zootec.*, v.34, n.6, p.1835-1840.

MITJANA, O.; BONASTRE, C.; INSUA, D.; FALCETO, M.V.; ESTEBAN, J. JOSA, A.; ESPINOSA, E. 2014. The efficacy and effect of repeated exposure to 2-phenoxyethanol, clove oil and tricaine methanesulphonate as anesthetic agents on juvenile Angelfish (*Pterophyllum scalare*). *Aquaculture* 433:491–495.

NEIFFER, D.L.; STAMPER M.A. 2009. Fish sedation, anesthesia, analgesia, and euthanasia: considerations, methods, and types of drugs. *ILAR J* 50:343–360.

OHR, E.A. 1976. Tricaine methanesulphonate–I, pH and its effects on anaesthetic potency. *Comp Biochem Physiol* 54:13–17

OSTRENSKY, A.; PEDRAZZANI, A.S.; VICENTE, A.L. 2015. Use of MS-222 (tricaine methanesulfonate) and propofol (2,6-diisopropylphenol) as anaesthetics for the tetra *Astyanax altiparanae* (Teleostei, Characidae). *Aquaculture Research*. 1–12.

PÁDUA, S.B.; PIETRO, P.S.; IGLESIAS-FILHO, P.S.; ISHIKAWA, M.M.; HISANO, H. 2010. Mentol como anestésico para dourado (*Salminus brasiliensis*). *Boletim do Instituto de Pesca* 36(2):143-148.

PATEL, T.; ISHIUJI, Y.; YOSIPOVITCH, G. 2007. Menthol: A refreshing look at this ancient compound. *American Academy of Dermatology* 57:873-878.

PEREIRA-DA-SILVA, E.M.; OLIVEIRA, R.H.F.; DEL NERO, B. 2014. Menthol as anaesthetic for lambari *Astyanax altiparanae* (Garutti & Britski 2000): attenuation of stress responses. *Aquaculture Research*, 2014, 1–8.

PEREIRA-DA-SILVA, E.M.; OLIVEIRA, R.H.F.; RIBEIRO, M.A.R.; COPPOLA, M.P. 2009. Efeito anestésico do óleo de cravo em alevinos de lambari. *Ciência Rural*, Santa Maria, v.39, n.6, p.1851-1856, set, 2009.

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

READMAN, G.D.; OWEN, S.F.; KNOWLES, T.G.; MURRELL, J.C. 2017. Species specific anaesthetics for fish anaesthesia and euthanasia. *Scientific Reports*.

RIBEIRO, P.A.P.; DE MELO, D.C.; SANTO, A.H.E.; SILVA, W.S.; SANTOS, A.E.H.; LUZ, R.K. 2015a. A tricaine as an anaesthetic for larvae and juveniles of *lophiosilurus alexandri*, a carnivorous freshwater fish. *Aquaculture research* 46:1788–1792.

RIBEIRO, P.A.P.; MIRANDA-FILHO, K.C.; DE MELO, D.C.; LUZ, R.K. 2015b. Efficiency of eugenol as anesthetic for the early life stages of Nile tilapia (*oreochromis niloticus*). *Anais da academia brasileira de ciências* 87(1):529-535.

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

ROMBOUGH, P.J. 2007. Ontogenetic changes in the toxicity and efficacy of the anaesthetic MS-222 (tricaine methanesulfonate) in zebrafish (*Danio rerio*) larvae. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology* 148, 463–469.

ROSS, L.G.; ROSS, B. 2008. *Anaesthetic and sedative techniques for aquatic animals*. 3rd. ed. oxford, Blackwell Science.

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

ROUBACH, R.; GOMES, L.C.; LEÃO FONSECA, F.A.; VAL, A.L. 2005. Eugenol as an efficacious anaesthetic for tambaqui, *Colossoma macropomum* (Cuvier). *Aquaculture Research*, vol. 36, no. 11, pp. 1056-1061.

SALARO, A.L.; CAMPELO, D.A.V.; TAVARES, M.M.; BRAGA, L.G.T.; PONTES, M.D.; ZUANON, J.A.S. 2015. Transport of *Astyanax altiparanae* Garutti and Britski, 2000 in saline water *Acta Scientiarum. Biological Sciences*. 37:137-142.

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

SILVA L.L., SILVA D.T., GARLET Q.I., CUNHA M.A., MALLMANN C.A., BALDISSEROTTO B., LONGHI S.J., PEREIRA A.M.S.; HEINZMANN B.M. 2013. Anesthetic activity of Brazilian native plants in silver catfish (*Rhamdia quelen*). *Neotropical Ichthyology* 11, 443–451.

SILVA, J.M.F.; ANDRADE, D.R.; SOUZA, J.R.; BRAGA FILHO, J.M. 1994. Efeito do consórcio com lambaris-bocarras (*Oligosarcus argenteus* Gunther, 1864) no aumento da produtividade de tilápias-nilóticas (*Oreochromis niloticus* L.) alimentadas com ração farelada. *Ceres*. 238:595-607.

SIMÕES, L.N.; GOMES, L.C. 2009. Eficácia do mentol como anestésico para juvenis de Tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*). *Arquivos Brasileiros Medicina Veterinária Zootecnia* 61(3):613-620.

SLADKY, K.K.; SWANSON, C.R.; STOSKOPF, M.K.; LOOMIS, M.R.; LEWBART, G.A. 2001. Comparative efficacy of tricaine methanesulfonate and clove oil for use as anesthetics in red pacu (*Piaractus brachypomus*). *Am. J. Vet. Res.* 62, 337–342.

SMIT, G.L.; HATTINGH, J.; BURGER, A.P. 1979. Haematological assessment of the effects of the anaesthetic MS 222 in natural and neutralized form in three freshwater fish species: interspecies differences. *J. Fish Biol.* 15: 633-643.

SNEDDON, L.U. 2012. Clinical anesthesia and analgesia in fish. *Journal of Exotic Pet Medicine* 21, 32–43.

SOUZA, R.A.R.; CARVALHO, C.V.A.; NUNES, F.F.N.; SCOPEL, B.R.; GUARIZI, J.D.; TSUZUKI, M.Y. 2012. Efeito comparativo da benzocaína, mentol e eugenol como anestésicos para juvenis de robalo peva. *Boletim Instituto de Pesca* 38(3):247 – 255.

- STRANGE, R.J.; SCHRECK, C.B. 1978. Anesthetic and handling stress on survival and cortisol concentration in yearling chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). J. Fish. Res. Board Can. 35:345-349.
- THOMAS, P.; ROBERTSON, L. 1991. Plasma cortisol and glucose stress responses of red drum (*Sciaenops ocellatus*) to handling and shallow water stressors and anesthesia with MS-222, quinaldine sulfate and metomidate. Aquaculture. 96:69-86.
- TOPIC POPOVIC, N.; STRUNJAK-PEROVIC, I.; COZ-RAKOVAC, R.; BARISIC, J.; JADAN, M.; PERSIN BERAKOVIC, A.; SAUERBORN KLOBUCAR R. 2012. Tricaine methane-sulfonate (MS-222) application in fish anaesthesia. Jour. of Appl. Ichth. 28, 553–564.
- TURINA, A.V.; NOLAN, M.V.; ZYGADLO, J.A.; PERILLO, M.A. 2006. Natural terpenes: self-assembly and membrane partitioning. Biophys. Chem. 122, 101–113.
- VIDAL, L.V.O.; ALBINATI, R.C.B.; ALBINATI, A.C.L.; LIRA, A.D.; ALMEIDA, T.R.; SANTOS, G.B. 2008. Eugenol como anestésico para a Tilápia-do-Nilo. Pesquisa Agropecuária Brasileira 43(8):1069-1074.
- VIDAL, L.V.O.; FURUYA, W.M.; GRACIANO, T.S.; SCHAMBER, C.R.; SILVA, L.; SANTOS, L.D.; SOUZA, S.R. 2007. Eugenol como anestésico para juvenis de matrinxã (*Brycon cephalus*). Revista brasileira de saúde produção animal 8(4):335-342.
- WAGNER, G.N.; SINGER, T.D.; MCKINLEY, R.S. 2003. The ability of clove oil and MS-222 to minimize handling stress in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum). Aquaculture Research. 34, 1139-1146.
- WALSH, C.T. AND PEASE, B.C. 2002. The use of clove oil as an anesthetic for the long finned eel, *Anguilla reinhardtii* (Steindachner). Aquaculture Research 33:627-635.
- WEBER, E.A.; PELETEIRO, J.B.; GARCÍA MARTIN, L.O.; ALDEGUNDE, M. 2009. The efficacy of 2-phenoxyethanol, metomidate, clove oil and MS-222 as anaesthetic agents in the Senegalese sole (*Solea senegalensis* Kaup 1858). Aquaculture. 288:147-150.
- WEDEMEYER, G. 1970. Stress of anesthesia with M.S. 222 and benzocaine in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). J. Fish. Res. Bd. Canada 27:909-914.
- WOODY, C.A.; NELSON, J.; RAMSTAD, K. 2002. Clove oil as an anesthetic for adult sockeye salmon: field trails. Journal of fish biology 60:340-347.
- YASUI, G.S. AND ANDRADE, D.R. 2003. O manejo da reprodução natural e artificial e sua importância na produção de peixes no Brasil. Rev. Bras. Reprod. Anim., v.27, n.2, p.166-172.
- ZAHL, I.H.; KIESSLING, A.; SAMUELSEN, O.B.; HANSEN, M.K. 2009. Anaesthesia of Atlantic cod (*Gadus morhua*) — Effect of pre-anaesthetic sedation, and importance of body weight, temperature and stress. Aquaculture 295 (2009) 52–59.
- ZAHL, I.H.; SAMUELSEN, O.; KIESSLING, A. 2012. Anaesthesia of farmed fish: implications for welfare. Fish Physiol Biochem 38: 201-218.

4. CONCLUSÕES FINAIS

- A tricaína, benzocaína, óleo de cravo e mentol são anestésicos efetivos para o manejo de adultos de lambari bocarra na temperatura de 25°C;
- A concentração adequada para anestesia profunda em adultos de lambari bocarra de 11,2 g é de 100 mg de MS-222 L⁻¹ e a indução a anestesia cirúrgica pode ser realizada com a concentração de 150 mg de MS-222 L⁻¹;
- A concentração adequada para anestesia profunda em adultos de lambari bocarra de 11,2 g é de 75 mg de benzocaína L⁻¹ e a indução a anestesia cirúrgica pode ser realizada com a concentração de 100 mg de benzocaína L⁻¹;
- A concentração adequada para anestesia profunda em adultos de lambari bocarra de 11,2 g é de 50 mg de óleo de cravo L⁻¹ e a indução a anestesia cirúrgica pode ser realizada com a concentração de 75 mg de óleo de cravo L⁻¹;
- A concentração adequada para anestesia profunda em adultos de lambari bocarra de 11,2 g é de 50 mg de mentol L⁻¹ e a indução a anestesia cirúrgica pode ser realizada com a concentração de 100 mg de mentol L⁻¹;
- O tempo de indução é influenciado pelas concentrações de tricaína, benzocaína, mentol e óleo de cravo. O aumento das concentrações resulta na diminuição do tempo de indução à anestesia, independente do anestésico;
- Os tempos de recuperação dos adultos de lambari bocarra não são influenciados pelas concentrações crescentes de MS-222, óleo de cravo e mentol, exceto ao anestésico benzocaína;
- Com exceção da tricaína os demais anestésicos apresentam resposta quadrática entre o tempo de indução e as concentrações testadas. A concentração de 111,43 mg de benzocaína L⁻¹ promove o tempo mínimo de 0,16 minutos de indução; a concentração de 103,56 mg de óleo de cravo L⁻¹ promove o tempo mínimo de 1,31 minutos de indução e a concentração de 116,50 mg de mentol L⁻¹ promove o tempo mínimo de 2,25 minutos de indução;
- Independente da concentração do anestésico e da aplicação do solvente e do tampão, os adultos de lambari bocarra, apresentam retorno do apetite durante as primeiras 24 horas após a exposição aos fármacos;
- As concentrações recomendadas por este estudo não foram tóxicas para provocar taxas de mortalidade. Isso indica que o manejo de anestesia com a espécie pode ser realizado com segurança nas concentrações indicadas.

ANEXO I – MS-222

Espécie	Concentração (mg L ⁻¹)	Fase de desenvolvimento	Autor(es)
<i>Arapaima gigas</i> – Pirarucu	100 mg L ⁻¹	Juvenil	HINOSTROZA; SERRANO-MARTINEZ, 2013
<i>Astyanax altiparanae</i> - Lambari do rabo amarelo	90 mg L ⁻¹	Juvenil e Adulto	OSTRENSKY et al. 2015
<i>Brycon cephalus</i> - Matrinxã	150 mg L ⁻¹	Juvenil	ROUBACH et al., 2001
<i>Colossoma macropomum</i> - Tambaqui	240 mg L ⁻¹	Juvenil	BARBAS et al., 2017
<i>Ctenopharyngodon idella</i> - Carpa capim	75 mg L ⁻¹	Adulto	SCHRAMM; BLACK, 1984
<i>Cyprinus carpio</i> - Carpa comum	200 mg L ⁻¹	Adulto	HIKASA et al., 1986
<i>Cyprinus carpio</i> - Carpa comum*	20-85 mg L ⁻¹	Adulto	TAKEDA et al., 1987
<i>Cyprinus carpio</i> - Carpa comum	100 mg L ⁻¹	Adulto	HOUSTON et al., 1973
<i>Ictalurus punctatus</i> - Bagre americano	100 ppm	Juvenil	SMALL, 2003
<i>Ictalurus punctatus</i> - Bagre americano	90 mg L ⁻¹	Juvenil	WELKER et al., 2007
<i>Lophiosilurus alexandri</i> - Pacamã	100-280 mg L ⁻¹	Larva e Juvenil	RIBEIRO et al., 2013
<i>Oncorhynchus mykiss</i> - Truta arco-íris	100 mg L ⁻¹	Adulto	SOIVIO et al., 1977
<i>Oncorhynchus mykiss</i> - Truta arco-íris	80 mg L ⁻¹	---	WEDEMEYER, 1969
<i>Oncorhynchus mykiss</i> - Truta arco-íris	60 mg L ⁻¹	Juvenil	WAGNER et al., 2003
<i>Oncorhynchus tshawytscha</i> - Truta	50 mg L ⁻¹	Juvenil	CHO; HEATH, 2000
<i>Oreochromis niloticus</i> - Tilápia do Nilo	100-200 mg L ⁻¹	Adulto	ROSS; GEDDES, 1979
<i>Oreochromis niloticus</i> - Tilápia do Nilo	60-70 mg L ⁻¹	Juvenil	ROSS; GEDDES, 1979
<i>Piaractus brachipomus</i> - Pirapitinga	100 ppm	Alevino e Juvenil	VELASCO-SANTAMARIA, et al. 2008
<i>Rhamdia quelen</i> - Jundiá	300 mg L ⁻¹	Juvenil e Adulto	GRESSLER et al., 2012
Peixes ornamentais			
<i>Carassius auratus</i> - Kinguio	200 mg L ⁻¹	Juvenil	KÜÇÜK; ÇOBAN, 2016
<i>Danio rerio</i> – Paulistinha	168 mg L ⁻¹	Juvenil	NORDGREN et al., 2014
<i>Poecilia vivipara</i> - Guppy	200 mg L ⁻¹	Adulto	BOLASINA et al., 2017
<i>Pterophyllum scalare</i> - Acará bandeira	140 mg L ⁻¹	Juvenil	MITJANA et al., 2014
<i>Xiphophorus maculatus</i> - Plati	30 mg L ⁻¹	Juvenil	GUO et al., 1995
Peixes marinhos			
<i>Gadus morhua</i> - Bacalhau	75 mg L ⁻¹	Juvenil	MATTSON; RIPLE, 1989
<i>Mugil cephalus</i> – Tainha olhalvo	80 mg L ⁻¹	Juvenil	SYLVESTER, 1975
<i>Rachycentron canadum</i> - Beijupirá	60 mg L ⁻¹	Juvenil	GULLIAN; VILLANUEVA, 2009

*Método por irrigação das brânquias

ANEXO II - Benzocaína

Espécie - Nome popular	Concentração (mg L ⁻¹)	Fase de desenvolvimento	Autor(es)
<i>Arapaima gigas</i> - Pirarucu**	50-100	Juvenil	HONCZARYK; INOUE, 2010
<i>Astyanax altiparanae</i> - Lambari do rabo amarelo	100	Juvenil	GIMBO et al., 2008
<i>Brycon cephalus</i> - Matrinxã	60	Juvenil	INOUE et al., 2002
<i>Brycon hilarii</i> - Piraputanga	100	Juvenil	FABIANI et al., 2013
<i>Colossoma macropomum</i> - Tambaqui	100-150	Juvenil	GOMES et al., 2001
<i>Colossoma macropomum</i> - Tambaqui	100	Juvenil e Sub-adulto	ROUBACH et al., 2005
<i>Cyprinus carpio</i> - Carpa comum	87,5-100	Juvenil	BITTENCOURT et al., 2013
<i>Cyprinus carpio</i> - Carpa comum	125.79	Juvenil	ANTUNES et al., 2008
<i>Piaractus mesopotamicus x Piaractus brachypomus</i> - Patinga	150	Alevino	RODRIGUES et al., 2016
<i>Oncorhynchus mykiss</i> - Truta***	50	Juvenil	OSWALD, 1978
<i>Oreochromis niloticus</i> - Tilápia do Nilo	100	Alevino	ROSS; GEDDES, 1979
<i>Oreochromis niloticus</i> - Tilápia do Nilo	190	Juvenil e Adulto	OKAMURA et al., 2010
<i>Oreochromis niloticus</i> - Tilápia do Nilo	20	Alevino e Juvenil	OLIVEIRA et al., 2009
<i>Oreochromis mossambicus</i> - Tilápia	25	Juvenil	FERREIRA et al., 1984
<i>Piaractus brachypomus</i> - Pirapitinga	150	Alevino e Juvenil	VELASCO-SANTAMARIA, et al. 2008
<i>Pimelodus britskii</i> - Mandi-Pintado	200	Juvenil	BERTOZI JÚNIOR et al., 2014
<i>Prochilodus lineatus</i> - Curimatã	100-200	Juvenil	PARMA-de-CROUX, 1990
Peixes ornamentais			
<i>Carassius auratus</i> - Kinguio	87,5	Juvenil	BITTENCOURT, 2012
<i>Carassius carassius</i> - Carpa	100	Juvenil	HEO; SHIN, 2010
<i>Poecilia vivipara</i> - Guppy	200	Adulto	BOLASINA et al., 2017
Peixes marinhos			
<i>Centropomus parallelus</i> - Robalo Peva	75	Juvenil	SOUZA, et al., 2012
<i>Gadus morhua</i> - Bacalhau	40	---	ROSS; ROSS, 2008
<i>Trachinotus marginatus</i> - Pampo	50	Juvenil	OKAMOTO et al., 2009

**Método por aspersão das brânquias

*** Método por injeção intraperitoneal

ANEXO III – Óleo de cravo

Espécie - Nome popular	Concentração (mg L ⁻¹)	Fase de desenvolvimento	Autor(es)
<i>Arapaima gigas</i> - Pirarucu**	30-60	Juvenil	HONCZARYK; INOUE, 2009
<i>Astyanax altiparanae</i> - Lambari do rabo amarelo	50	Alevino	PEREIRA-da-SILVA et al., 2009
<i>Brycon amazonicus</i> - Matrinxã	60	Juvenil	BARBOSA et al., 2007
<i>Brycon cephalus</i> - Matrinxã	50	Juvenil	VIDAL et al., 2007b
<i>Brycon cephalus</i> - Matrinxã	40	Juvenil	INOUE et al., 2003
<i>Brycon cephalus</i> - Matrinxã	5	Juvenil	INOUE et al., 2005
<i>Brycon hilarii</i> - Piraputanga	100-150	Juvenil	FABIANI et al., 2013
<i>Colossoma macropomum</i> - Tambaqui	65	Juvenil e Sub-adulto	ROUBACH et al., 2005
<i>Colossoma macropomum</i> - Tambaqui	20	Juvenil	INOUE et al., 2011
<i>Cyprinus carpio</i> - Carpa comum	37,5	Juvenil	BITTENCOURT et al., 2013
<i>Cyprinus carpio</i> - Carpa comum	100	Adulto	HIKASA et al., 1986
<i>Cyprinus carpio</i> - Carpa comum	30-50	Juvenil	HAJEK et al., 2006
<i>Cyprinus carpio</i> - Carpa comum	30	Juvenil	VELISEK et al., 2005b
<i>Piaractus mesopotamicus</i> x <i>Piaractus brachypomus</i> - Patinga	50	Juvenil	MARTINS et al., 2014
<i>Piaractus mesopotamicus</i> x <i>Piaractus brachypomus</i> - Patinga	20	Alevino	RODRIGUES et al., 2015
<i>Ictalurus punctatus</i> - Bagre americano	100	Alevino	WATERSTRAT, 1999
<i>Leporinus macrocephalus</i> - Piavuçu	37,5	Juvenil	VIDAL et al., 2007a
<i>Lophiosilurus alexandri</i> - Pacamã	120	Juvenil	RIBEIRO et al., 2013
<i>Oncorhynchus mykiss</i> - Truta	40-60	Juvenil	KEENE et al., 1998
<i>Oncorhynchus mykiss</i> - Truta*	30	Adulto	PRINCE; POWELL, 2000
<i>Oncorhynchus mykiss</i> - Truta	100-120	Juvenil e Adulto	ANDERSON et al., 1997
<i>Oncorhynchus mykiss</i> - Truta	30	Alevino	VELISEK et al., 2005a
<i>Oreochromis niloticus</i> - Tilápia nilótica	100-250	Adultos	SIMÕES et al., 2010
<i>Oreochromis niloticus</i> - Tilápia nilótica	100	Juvenil	DELBON; PAIVA, 2012
<i>Oreochromis niloticus</i> - Tilápia nilótica	150	Juvenil avançado	SIMÕES et al., 2012
<i>Oreochromis niloticus</i> - Tilápia nilótica	75	Juvenil	VIDAL et al., 2008
<i>Oreochromis niloticus</i> - Tilápia nilótica	120	Adultos	MOREIRA et al., 2015

*Método por irrigação das brânquias

**Método por aspersão das brânquias

Espécie - Nome popular	Concentração (mg L⁻¹)	Fase de desenvolvimento	Autor(es)
<i>Oreochromis niloticus</i> - Tilápia nilótica	5	Alevinos e Juvenis	OLIVEIRA et al., 2009
<i>Piaractus mesopotamicus</i> - Pacu	30-150	Juvenil avançado	RIBEIRO et al., 2010
<i>Piaractus mesopotamicus</i> - Pacu	50	Juvenil	GONÇALVES et al., 2008
<i>Piaractus mesopotamicus</i> - Pacu	100	Juvenil	SANCHEZ et al., 2014a
<i>Piaractus mesopotamicus</i> - Pacu	175-240	Juvenil	ROTILI et al., 2012
<i>Pimelodus britskii</i> - Mandi-pintado	70	Juvenil	BERTOZI JÚNIOR et al., 2014
<i>Pseudoplatystoma corruscans</i> - Pintado	50	Juvenil	VIDAL et al., 2006
<i>Pseudoplatystoma reticulatum</i> - Cachara	100	Juvenil	SANCHEZ et al., 2014b
<i>Rhamdia quelen</i> - Jundiá	20-50	Juvenil em desenvolvimento	CUNHA et al., 2010
<i>Rhamdia voulezi</i> - Jundiá	50	Juvenil avançado	DIEMER et al., 2012
<i>Salminus brasiliensis</i> - Dourado	40-60	Juvenil	HISANO et al., 2008
Peixes ornamentais			
<i>Carassius auratus</i> - Kinguio	50	Juvenil	ENDO et al., 1972
<i>Carassius auratus</i> - Kinguio	50	Juvenil	BITTENCOURT et al., 2012
<i>Poecilia vivipara</i> - Guppy	100	Adulto	BOLASINA et al., 2017
<i>Pterophyllum scalare</i> - Acará bandeira	100	Juvenil	MITJANA et al., 2014
<i>Xiphophorus helleri</i> - Espadinha	80	Juvenil	VARTAK et al., 2002
<i>Xiphophorus maculatus</i> - Platy	100	Juvenil	HOSHIBA et al., 2015
Peixes marinhos			
<i>Centropomus parallelus</i> - Robalo peva	37,5	Juvenil	SOUZA et al., 2012
<i>Centropomus undecimalis</i> - Robalo Flecha	50	Juvenil	BERNARDES JUNIOR et al., 2013
<i>Epinephelus bruneus</i> - Garoupa	50-300	Juvenil	PARK et al., 2008
<i>Lutjanus synagris</i> - Ariacó	50	Alevino, Juvenil e Adulto	SOUZA et al., 2015
<i>Rachycentron canadum</i> - Beijupirá	20	Juvenil	GULLIAN e VILLANUEVA, 2009
<i>Trachinotus marginatus</i> - Pampo	50	Juvenil	OKAMOTO et al., 2009

ANEXO IV - Mentol

Espécie	Concentração (mg L⁻¹)	Fase de desenvolvimento	Autor(es)
<i>Astyanax altiparanae</i> - Lambari do rabo amarelo	50	Alevino e Juvenil	PEREIRA-da-SILVA et al., 2014
<i>Colossoma macropomum</i> - Tambaqui	100-150	Juvenil	FACANHA e GOMES, 2005
<i>Cyprinus carpio</i> - Carpa comum	118	Juvenil	MAZANDARANI e HOSEINI, 2016
<i>Oreochromis niloticus</i> - Tilápia do Nilo	60; 180; 240	Alevino, Juvenil e Adulto	TEIXEIRA et al., 2011
<i>Oreochromis niloticus</i> - Tilápia do Nilo	150-250	Juvenil	SIMÕES e GOMES, 2009
<i>Oreochromis niloticus</i> - Tilápia do Nilo	125	Juvenil	MELLO et al., 2012
<i>Oreochromis niloticus</i> - Tilápia do Nilo	20	Alevino	NAVARRO et al., 2016
<i>Piaractus mesopotamicus</i> - Pacu	100	Juvenil	GONCALVES et al., 2008
<i>Piaractus mesopotamicus</i> - Pacu	150	Juvenil	SANCHEZ et al., 2014a
<i>Pseudoplatystoma reticulatum</i> – Cachara	150	Juvenil	SANCHEZ et al., 2014b
<i>Salminus brasiliensis</i> - Dourado	60	Juvenil	PADUA et al., 2010
<i>Peixes ornamentais</i>			
<i>Xiphophorus maculatus</i> - Platy	100	Juvenil	HOSHIBA et al., 2015
<i>Peixes marinhos</i>			
<i>Centropomus parallelus</i> – Robalo peva	150	Juvenil	SOUZA et al., 2012
<i>Centropomus parallelus</i> – Robalo peva	37-50	Juvenil	SEPULCHRO et al., 2016