



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PAMPA

LARISSA DA CUNHA

ÓLEO DE CRAVO E MENTOL COMO ANESTÉSICOS PARA GUPPY (*Poecilia reticulata*)

URUGUAIANA, RS.

2014

LARISSA DA CUNHA

ÓLEO DE CRAVO E MENTOL COMO ANESTÉSICOS PARA GUPPY (*Poecilia reticulata*)

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Curso Superior de Tecnologia em Aquicultura da Universidade Federal do Pampa Campus Uruguaiana, como parte dos requisitos para obtenção do título de Tecnólogo em Aquicultura.

Orientador: Prof. Dr. Márcio Aquio Hoshiba

**Uruguaiana
2014**

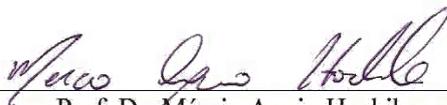
LARISSA DA CUNHA

ÓLEO DE CRAVO E MENTOL COMO ANESTÉSICOS PARA GUPPY (*Poecilia reticulata*)

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Curso Superior de Tecnologia em Aquicultura da Universidade Federal do Pampa Campus Uruguaiana, como parte dos requisitos para obtenção do título de Tecnólogo em Aquicultura.

Trabalho de conclusão de curso defendido e aprovado em: 28 de março de 2014.

Banca examinadora:

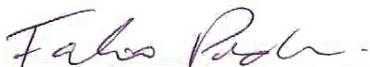


Prof. Dr. Márcio Aquio Hoshiba
Orientador

Curso Superior de Tecnologia em Aquicultura – UNIPAMPA



Profª Dra. Alessandra Sayuri Kikuchi Tamajusuku Neis
Curso Superior de Tecnologia em Aquicultura – UNIPAMPA



Prof. Dr. Fabio de Araujo Pedron
Curso Superior de Tecnologia em Aquicultura – UNIPAMPA

DEDICATÓRIA

Dedico a minha mãe Lisiane, aos meus avós Ana e Luiz e a minha prima, Ana Beatriz, a todo apoio, amor e dedicação de sempre, meu muito obrigada!

AGRADECIMENTOS

Antes de tudo, agradeço a Deus, e a todas as energias comigo presentes. Obrigada pela força! E por estar comigo em todos os momentos.

Muito obrigada a minha mãe, Lisiane, que mesmo distante, sempre se fez presente em todos os momentos, sobretudo, em especial, neste, minha formação, algo que quem me conhece sabe o quanto significa para mim. Obrigada por toda dedicação, carinho e amor, por sempre fazer o que podia e o que não podia para me atender, te amo e serei eternamente grata!

E aos meus avós, digo, pais, Ana e Luiz. Aqueles que me criaram, abdicaram de algumas coisas durante a vida por nossa criação. E que estão e sempre estarão conosco. Meu muito obrigada pela minha educação, pelo amor, pela proteção, por mesmo que birrentos sempre atenderem nossas vontades. Pelo apoio diário, pai, pelas inúmeras caronas que me deste para alimentar meus peixes. Mãe, pela minha refeição maravilhosa de cada dia, o que seria de mim na correria do dia-a-dia se não fossem as marmitinhas de mamãe. Enfim, agradeço a tudo, demais e sempre! Vocês foram e sempre serão peças essenciais na minha vontade de crescer. Obrigada por tudo sempre. Amo vocês!

Agradeço também a pentelha que me acompanha sempre, Ana Beatriz, minha prima, minha irmã. Obrigada por me ouvir nos momentos de loucura e por mesmo tão jovem entender tanta coisa junto a mim, que sigamos eternamente assim. Amém!

Agradeço agora aos que me acompanharam no dia a dia da minha trajetória acadêmica. Em especial, ao meu orientador, Prof. Dr. Márcio Aquio Hoshiba, obrigada por instigar o espírito da pesquisa em mim, pela crença no meu trabalho, pela amizade, confiança, dedicação e presença. Foste acima de tudo um grande amigo. Obrigada acima de tudo pelos desafios propostos, aqueles que por mais que possam amedrontar, pelo novo, nos fazem crescer. Foste peça fundamental em meu crescimento como acadêmica, pesquisadora e pessoa. Obrigada sempre!

Um agradecimento especial aos meus colegas de pesquisa, amigos, irmãos, do Aquapampa, sim porque no Aquapampa foi formada para mim uma família, assim como para os demais que me acompanharam também: Andressa, Leonardo, Matheus, Luciano, Jóia, Paraíba, Mário, Jéssica. Vocês que estiveram comigo em absolutamente todos, ou quase todos, os momentos das nossas pesquisas. Aqui nada foi criado por um, tudo foi criado por todos! Obrigada pela honra de ter convivido com vocês e pelo tanto que aprendi com os mesmos. Levarei nosso exemplo de comprometimento, responsabilidade, honra, parceria, companheirismo, irmandade e amizade pelo resto da vida. Obrigada por todos os

sábados, domingos e feriados de experimentos, cansativos, mas com aquela sensação de orgulho do dever cumprido que sempre tivemos no final do dia, meu muito obrigada! Sei que ainda terei muito que comemorar com vocês! Torço por vocês assim como torço por mim. E estarei aqui pra ajudar no que puder e ficar feliz com as conquistas de cada um. Vocês podem não saber, mas estiveram dentre as bases mais importantes da ponte que atravessei para chegar aonde cheguei e continuarão me sustentando através de nossa amizade, independente do lugar que cada um de nós estiver. Orgulho-me de nós e do nosso trabalho em equipe. A cada um de vocês, meu muito obrigada, de forma especial.

Agradeço também aos professores do Curso Superior de Tecnologia em Aquicultura, e aos que já passaram pelo mesmo, em especial, a Prof^a Dra. Alessandra, ao Prof. Dr. Fábio, ao Prof. Dr. Ivanir, e as Prof^{as} Dra. Viviani e Prof^a Dra. Priscila. Obrigada por terem me proporcionado a honra de ter convivido tão de perto com vocês. Que sorte todos os acadêmicos teriam se pudessem desde o início de sua formação acadêmica conviver tão de perto com pessoas e profissionais como vocês, que não medem esforços para ajudar a todo o momento. Obrigada por cada conversa, e cada ensinamento proporcionado nesses anos de Aquicultura. Por já terem passado por estas fases imagino que saibam a importância que possuem para nós. Meu eterno muito obrigada!

Ao técnico Guilherme, que por mais curta que seja sua passagem em nosso curso, deixará sua marca e exemplo do profissional e pessoa que és. Obrigada pela participação em todos os experimentos, pela tua responsabilidade e pelo trabalho aparentemente incansável no Laboratório de Aquariorfilia, sem dúvidas nenhuma, és um exemplo para todos nós.

Quase no fim, agradeço a todos meus colegas da Aquicultura, em especial, os da turma de 2010, turma essa maravilhosa que tive a sorte de conviver. Cada um com suas peculiaridades e méritos pelas pessoas que são, meu muito obrigada por tudo a cada um de vocês. Turma de onde extraí grandes amigos e que os levarei eternamente onde estiver. Assim como a todos, os colegas e amigos de todas as turmas da Aquicultura, a presença de vocês em minha vida nestes anos fez tudo correr de maneira mais leve. Um viva a nossa Aquicultura sempre!

Agradeço a cada pessoa que esteve do lado de fora da Universidade torcendo por mim, meus amigos, minha família, meus tios Lidiane e Lizandro. Foi seguindo o exemplo de força e garra de vocês que segui e seguirei. Obrigada por estarem comigo sempre. Vocês foram a alma de tudo.

Por fim, agradeço ao Curso Superior de Tecnologia em Aquicultura e a Unipampa, por terem me proporcionado realizar um dos sonhos de minha vida. Que continuem realizando os de outrem.

Sou grata a tudo e todos, sempre!

“Sonho que se sonha só, é só um sonho que se sonha só, mas sonho que se sonha junto é realidade.”

Raul Seixas

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1

Figura 1 - Exemplar de fêmea adulta de guppy (<i>Poecilia reticulata</i>).....	22
Figura 2 - Exemplar de macho adulto de guppy (<i>Poecilia reticulata</i>).....	23
Figura 3 - Exemplar de filhote de guppy (<i>Poecilia reticulata</i>).....	23
Figura 4 - Sistema de aquários utilizado para aclimação.....	24
Figura 5 - Aquário utilizado para indução anestésica.....	24
Figura 6 - Bateria de aquários de indução e recuperação anestésica (aquários menores para indução e maiores para recuperação).....	25
Figura 7 - Peixe representando o Estágio 1 de indução anestésica (movimento natatório reduzido).....	26
Figura 8 - Peixe representando o Estágio 2 de indução anestésica (perda do movimento muscular e do equilíbrio).....	26
Figura 9 - Peixe representando o Estágio 3 de indução anestésica (perda total do reflexos a estímulos externos).....	27
Figura 10 - Multiparâmetro.....	28
Figura 11 - Balança analítica.....	29
Figura 12 - Paquímetro digital.....	29

CAPÍTULO 2

Figura 1 - Exemplar de fêmea adulta de guppy (<i>Poecilia reticulata</i>).....	46
Figura 2 - Exemplar de macho adulto de guppy (<i>Poecilia reticulata</i>).....	47
Figura 3 - Exemplar de filhote de guppy (<i>Poecilia reticulata</i>).....	47
Figura 4 - Aquário utilizado para indução anestésica.....	48

Figura 5 - Aquários de indução e recuperação anestésica (aquários menores para indução e maiores para recuperação).....	48
Figura 6 - Peixe representando o Estágio 1 de indução anestésica (movimento natatório reduzido).....	49
Figura 7 - Peixe representando o Estágio 2 de indução anestésica (perda do movimento muscular e do equilíbrio).....	49
Figura 8 - Peixe representando o Estágio 3 de indução anestésica (perda total do reflexo a estímulos externos).....	50
Figura 9 – Multiparâmetro.....	51
Figura 10 - Balança analítica de precisão.....	52
Figura 11 - Paquímetro digital.....	52

LISTA DE TABELAS E QUADROS

CAPÍTULO 1

Tabela 1 - Ingredientes utilizados para a formulação das concentrações anestésicas para indução a anestesia profunda de guppys (<i>Poecilia reticulata</i>).....	28
Tabela 2 - Tempo de indução (em minutos) e recuperação de fêmeas adultas de guppy expostas a diferentes concentrações de óleo de cravo.....	32
Tabela 3 - Tempo de indução (em minutos) e recuperação de machos adultos de guppy expostos a diferentes concentrações de óleo de cravo.....	33
Tabela 4 - Tempo de indução (em minutos) e recuperação de filhotes de guppy expostos a diferentes concentrações de óleo de cravo.....	34
Quadro 1 - Características comportamentais em peixes em três estágios de anestesia e recuperação.....	27

CAPÍTULO 2

Tabela 1 - Tempo de indução (em minutos) e recuperação de fêmeas adultas de guppy expostas a diferentes concentrações de mentol.....	55
Tabela 2 - Tempo de indução (em minutos) e recuperação de machos adultos de guppy expostos a diferentes concentrações de mentol.....	56
Tabela 3 - Tempo de indução (em minutos) e recuperação de filhotes de guppy expostos a diferentes concentrações de mentol.....	57
Quadro 1 - Características comportamentais em peixes em três estágios de anestesia e recuperação.....	50

SUMÁRIO

Conteúdo

CONSIDERAÇÕES GERAIS	12
CAPÍTULO 1 – ÓLEO DE CRAVO COMO ANESTÉSICO PARA GUPPY (<i>Poecilia reticulata</i>)	17
RESUMO	17
ABSTRACT	18
1. INTRODUÇÃO	19
2. OBJETIVOS	21
2.1 OBJETIVO GERAL	21
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	21
3. MATERIAL E MÉTODOS	22
3.1. Espécie estudada	22
3.2. Local do experimento	22
3.3. Animais	22
3.4. Indução e Recuperação Anestésica	24
3.5. Concentrações	28
3.6. Parâmetros Limnológicos	28
3.7. Biometria	29
3.8. Delineamento experimental e Análise estatística	30
4. RESULTADOS E DISCUSSÕES	31
4.1. Análise dos resultados da anestesia nas fêmeas	31
4.2. Análise dos resultados da anestesia nos machos	32
4.3. Análise dos resultados da anestesia nos filhotes	33
5. CONCLUSÕES	37
6. REFERÊNCIAS	38
CAPÍTULO 2 – O USO DO MENTOL COMO ANESTÉSICO PARA GUPPY (<i>Poecilia reticulata</i>)	41
RESUMO	41
ABSTRACT	42
1. INTRODUÇÃO	43
2. OBJETIVOS	45
2.1. OBJETIVO GERAL	45
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	45
3. MATERIAL E MÉTODOS	46
3.1. Espécie estudada	46

3.2.	Local do experimento	46
3.3.	Animais	46
3.4.	Indução e Recuperação Anestésica	47
3.5.	Concentrações	51
3.6.	Parâmetros Limnológicos	51
3.7.	Biometria	51
3.8.	Delineamento experimental e Análise estatística	52
4.	RESULTADOS E DISCUSSÕES	54
4.1.	Resultados da anestesia de fêmeas.....	54
4.2.	Resultados da anestesia de machos.....	55
4.3.	Resultados da anestesia para filhotes.....	56
5.	CONCLUSÕES.....	60
6.	REFERÊNCIAS	61
	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	64
	REFERÊNCIAS GERAIS	65

CONSIDERAÇÕES GERAIS

A aquicultura pode ser definida como o cultivo dos seres que têm na água o seu principal ou mais frequente ambiente de vida (CAMARGO; POUÉY, 2005), ou seja, o cultivo de animais aquáticos e semi-aquáticos, tais como peixes, moluscos, crustáceos, ratões do banhado, rãs, tartarugas, jacarés, dentre outros. Apesar de ser uma atividade bastante antiga, vem destacando-se cada vez mais dentre as atividades agropecuárias, principalmente na produção de organismos direcionados para a alimentação humana e/ou animal e o cultivo para fins ornamentais (CARDOSO, 2011). De acordo com Corrêa (2008), no território brasileiro existem diversos organismos aquáticos que são criados comercialmente, como moluscos, bivalves, crustáceos e peixes. Dentre as atividades da aquicultura, a piscicultura se destaca como uma das atividades mais tradicionais possuindo relevante papel social tratando-se de um meio de subsistência fundamental de diversas comunidades. A atividade da piscicultura refere-se à criação de peixes de água continental ou marinha. Corrêa (2008) cita que a piscicultura continental, em particular, ocorre em todo o território brasileiro com adaptações para as características de cada região. Segundo Baldisserotto (2009), o Rio Grande do Sul contribui com uma boa porcentagem da produção brasileira de piscicultura continental. Porém, devido à falta de conhecimento técnico, o que faz com que os produtores apresentem instalações e manejos inadequados em suas criações, a piscicultura no estado vem passando por um período de estagnação nos últimos anos, mas já com perspectivas de melhoras por meio de organizações, cooperativas e novos estudos. Dentro da piscicultura, a criação de peixes ornamentais vem começando a ganhar um destaque na aquicultura mundial e nacional. Rezende (2010) relata que é um ramo que possui um baixo custo de implantação e elevada rentabilidade para piscicultores (geralmente agricultores familiares), o que pode proporcionar uma oportuna forma de renda resultando em melhorias nas condições de vida.

Os maiores fornecedores de peixes ornamentais são países do sudeste asiático como Cingapura, Filipinas, Tailândia, Sri Lanka, Indonésia e Hong Kong. A América do Sul também tem uma participação considerável nessas exportações, principalmente a Colômbia, o Brasil e o Peru. Os maiores importadores de peixes ornamentais são os Estados Unidos, o Japão e países europeus como a Alemanha, a Inglaterra e a França (IBAMA, 2008). Segundo Ribeiro (2008^a), em 2007 o Brasil foi considerado o 18º exportador mundial de peixes ornamentais, com US\$5.051.895,00.

De acordo com Cardoso (2011), observa-se um aumento na atividade ornamental no mundo inteiro, através de investimentos públicos e privados. Segundo Ribeiro (2008^a), o

mercado mundial de aquarismo encontra-se em crescimento mesmo com o fim do período de alta do aquarismo, que ocasionou a diminuição do comércio de peixes, rações e equipamentos entre 1996 e 1999. As exportações mundiais de peixes ornamentais, marinhos e de água doce, têm aumentado em média 3,9% ao ano, nos últimos 10 anos. Se for levado em conta apenas o período entre 2002 e 2006, o crescimento das exportações mundiais foi de US\$23,1 milhões ou, 11,6% ao ano.

No Brasil, existem cerca de 3.000 espécies de peixes tropicais de água doce que, de alguma forma, possuem um caráter ornamental (LIMA, 2001). Segundo Carneiro (2000), ainda são incipientes os estudos a respeito das bacias hidrográficas brasileiras, estimando-se que os peixes ornamentais contribuem com um valor de exportação de 20 milhões peixes/ano. No entanto, Coe et al. (2011) afirmam que o Brasil nos últimos anos exportou uma média de 30 milhões de exemplares, gerando uma receita de mais de US\$ 5 milhões anuais. Baseado nesses levantamentos preliminares e na situação da cadeia produtiva do peixe ornamental pode-se destacar o Brasil como um dos maiores exportadores de peixes ornamentais do mundo, não em quantidade e valor, mas em função da grande diversidade de espécies existentes no país, onde muitas das espécies exportadas são capturadas diretamente na natureza (CARDOSO, 2011).

De acordo com Ribeiro (2008^b), não existem estatísticas oficiais a respeito da produção de peixes ornamentais pela produção aquícola. Porém, estima-se que as principais espécies comercializadas sejam: Betta (*Betta splendens*), Kingiuo ou Japonês (*Carassius auratus*), Carpa ou Koy (*Cyprinus carpio*) e Guppy ou Lebiste (*Poecilia reticulata*).

O Guppy, *Poecilia reticulata* Peters, 1859, é uma das espécies de peixes ornamentais mais difundidas em todo o mundo. Originário do norte da América do Sul foi introduzido no Brasil no século XIX e hoje constitui uma das espécies mais importantes da piscicultura ornamental (ALVES et al., 2000). Atualmente a sua produção vem ganhando destaque no ramo da Aquariorfilia, sendo considerada uma das espécies ícones do aquarismo com grande aceitação e popularidade por parte de seus praticantes em todo o mundo (RIBEIRO et al., 2010), isto se deve a sua grande diversidade de cores e linhagens, além de ser uma espécie de fácil manuseio em produção.

O crescente desenvolvimento da atividade vem despertando o interesse de piscicultores a procurarem práticas mais eficientes de manejo com a finalidade de produzir peixes com maior robustez e sanidade atendendo a um mercado cada vez mais exigente na qualidade e origem do seu animal. Durante os processos que constituem parte da cadeia produtiva (despesca, transporte e comercialização), os animais passam por diversos manejos

extremamente estressantes o que altera a sua coloração e vigor (REZENDE, 2010). Dentre os diversos agentes estressores, que podem estar presentes em um cultivo intensivo, o manejo encontra-se como um dos mais importantes do ponto de vista da produção. O manejo é um procedimento presente em quase todas as práticas comuns da piscicultura, devido à necessidade de realização de biometrias, separação ou repicagem do lote e também no transporte dos peixes (OBA et al., 2009).

De acordo com Oliveira e Galhardo (2007), os agentes de estresse causados por estes manejos, podem ser de curta ou de longa duração com diferentes intensidades. Quando expostos de forma moderada a estes agentes os animais podem produzir uma resposta adaptativa, que restitui o equilíbrio do organismo, chamada de síndrome da adaptação geral, descrita inicialmente em mamíferos (SELYE, 1950). No entanto, se a exposição for de maneira intensa ou prolongada a resposta pode tornar-se negativa a seu estado de saúde, levando-o até mesmo a morte. Conte (2004), adota o estresse como um dos principais fatores responsáveis pela ocorrência de doenças e mortalidade em aquicultura. As reações fisiológicas dos peixes aos agentes estressantes são divididas em primárias e secundárias (MAZEAUD et al., 1977). A resposta primária, ou reação de alarme, inclui as mudanças neuroendócrinas imediatas à exposição ao agente de estresse. O aumento do cortisol no sangue, principal corticosteróide em peixes, pode ser considerado um bom indicador para avaliação de estresse primário (MOMMSEN et al., 1999). A resposta secundária é uma fase de resistência e tentativa de adaptação, onde a elevação da glicemia e alterações hematológicas, iônicas e de osmolaridade são considerados efeitos secundários característicos. Após estas respostas, frente a uma contínua condição desfavorável, o organismo do peixe entra num processo de exaustão da capacidade adaptativa, quando a exposição a agentes de estresse se torna crônica, com uma contínua perda da homeostase fisiológica, levando-o à redução da capacidade reprodutiva e do crescimento e à imunodeficiência (WENDELAAR BONGA, 1997), respostas estas classificadas como terciárias.

Uma das práticas utilizadas para minimizar os efeitos destes agentes estressantes durante o manejo é a anestesia. Como as espécies produzidas em aquários sofrem intensas perturbações durante o manejo, é interessante a utilização de anestésicos para reduzir o estresse dos animais e evitar a morte desses peixes. O uso dessas substâncias tem demonstrado eficácia para contornar eventuais transtornos nas práticas de manejo aplicadas no cotidiano da criação de peixes, podendo reduzir significativamente os aspectos negativos de uma produção piscícola (BITTENCOURT et al., 2012).

De acordo com Okamura et al. (2010), a capacidade do anestésico em atenuar os efeitos do estresse causados pelos manejos nas pisciculturas é um parâmetro importante para sua escolha. Sabe-se que a imobilização química ajuda o peixe a minimizar os efeitos causados por procedimentos, como manipulações (DELBON, 2006). Assim, espera-se que peixes submetidos ao processo de anestesia não sofram distúrbios bioquímicos e fisiológicos. Os anestésicos de um modo geral são utilizados para reduzir o metabolismo, tendo como objetivo reduzir o consumo de O₂ e a excreção de metabólitos tóxicos, além de prevenir as injúrias físicas causadas pela hiperatividade dos peixes, em decorrência dos manejos (OBA et al., 2009).

Diversos anestésicos químicos são utilizados atualmente para indução à anestesia de peixes. Dentre eles os mais utilizados no Brasil são: *MS-222* (tricafina metanosulfonato), *Benzocaína* (ethyl-p-aminobenzoato), *Quinaldina* (2-4-metilquinolina) ou *Quinaldina sulfato* (sulfato de 2-4-metilquinolina) e *2-fenoxietanol* (fenoxietanol) (ROUBACH; GOMES, 2001). Porém, estudos relatam que estes produtos químicos podem causar danos aos animais como perda de muco, irritação das brânquias e danos nas córneas dos organismos, além de serem de alto custo e difícil obtenção (ROUBACH; GOMES, 2001). Dessa forma, procurando anestésicos menos residuais e agressivos, pesquisas com anestésicos de fontes naturais começaram a ser sugeridas.

Dentre os anestésicos naturais produzidos no Brasil, os que mais se destacam atualmente são o óleo de cravo e o mentol. De acordo com Gomes et al. (2001), no Brasil não existem leis que regularizem o uso de tais drogas. Sendo assim, em regra seguem-se as recomendações do Food and Drug Administration (FDA), que tem como único anestésico aprovado o MS-222, que possui valor comercial dez vezes maior que seu similar, a benzocaína. Contudo, a disponibilidade dos anestésicos naturais, mesmo não sendo substâncias reconhecidas pelo FDA, em anestésias para manejos vem se mostrando eficaz quando utilizados com precaução (BITTENCOURT et al., 2012). De acordo com Bittencourt et al. (2012), já existem diversos estudos que podem fazer com que esses produtos, a exemplo do óleo de cravo, passem de alternativo para convencional, inclusive com margens de segurança para as diferentes espécies de peixes. O óleo de cravo é um anestésico derivado da destilação de partes da planta do gênero *Eugenia* que tem como princípio ativo o eugenol, um depressor do sistema nervoso central (SNC) (ANDERSON et al., 1997). De acordo com Woody et al. (2002), uma das características do eugenol é a rápida eliminação da corrente sanguínea dos peixes, em menos de dois dias após sua utilização, o que favorece a sua escolha para utilização nos manejos. Porém, quando aplicadas doses elevadas, pode acarretar

prejuízos para um cultivo devido à sua toxicidade, sendo assim de grande relevância estudos que objetivem saber as concentrações anestésicas ideais para cada espécie.

O mentol, segundo Matos (2000), é extraído de óleos essenciais da planta *Mentha* (*Mentha arvensis* L.), planta medicinal e aromática com várias aplicações industriais, entre elas, propriedades anestésicas, antiespasmódicas, antiinflamatórias, antiúlcera e antivirais, sendo de grande importância econômica na indústria farmacêutica (LORENZO et al., 2002) e também na alimentícia e de cosméticos (SIMÕES; GOMES, 2009). Uma das vantagens do uso do mentol é que este é facilmente encontrado no mercado local a baixo custo (FAÇANHA; GOMES, 2005). Roubach e Gomes (2001) citam que são poucas as informações a respeito do mentol como anestésico, porém estudos realizados com tambaqui mostraram a eficácia do anestésico para indução à anestesia. Essa eficácia, no entanto, pode ser influenciada por diversos fatores. Segundo Delbon (2006), o conteúdo de gordura, o tamanho do corpo, idade e sexo, são características que influenciam na velocidade de indução e recuperação dos animais quando expostos aos diversos anestésicos. Como cada anestésico exige uma concentração diferente para induzir o estágio anestésico desejado, é necessário que sejam feitos testes preliminares com diferentes concentrações antes de aplicar o tratamento definitivo para não causar a mortalidade dos animais se expostos a altas dosagens do fármaco (ROUBACH; GOMES, 2001).

Diante do exposto observa-se que os estudos realizados com anestésicos envolvendo peixes ornamentais ainda são muito incipientes, onde a maioria acaba sendo realizado com peixes voltados para alimentação humana. Durante os manejos numa piscicultura ornamental, como as biometrias e o transporte, o estresse vem sendo responsável por uma grande mortalidade de indivíduos, que poderia ser minimizada com a utilização de anestésicos nas concentrações adequadas para cada espécie. Uma vez que não são encontradas referências das concentrações e dos anestésicos ideais para a maioria das espécies de peixes ornamentais, esses estudos se mostram promissores para auxiliar no desenvolvimento da cadeia produtiva desses organismos, prezando pela qualidade e saúde dos mesmos.

CAPÍTULO 1 – ÓLEO DE CRAVO COMO ANESTÉSICO PARA GUPPY (*Poecilia reticulata*)

RESUMO

Na piscicultura ornamental, os processos realizados durante manejos de rotina e/ou práticas experimentais são procedimentos imprescindíveis, mas que podem causar danos de variadas proporções aos peixes, acarretando como consequências desde a perda do apetite e peso, redução no crescimento até mesmo a morte dos animais. Nesse sentido, o uso do anestésico durante essas práticas vem se mostrando importante. O óleo de cravo é um dos anestésicos naturais que vem sendo muito estudado, sua utilização surge da necessidade de se encontrar produtos alternativos eficazes em substituição aos anestésicos sintéticos, que muitas vezes podem ocasionar danos aos animais. No entanto, um fator que limita a utilização desses produtos é a falta de conhecimento das concentrações ideais para cada espécie, tamanho e gênero de peixe, incluindo o Guppy (*Poecilia reticulata*). Diante disso, para avaliação desses parâmetros três categorias de Guppy (fêmeas adultas, machos adultos e filhotes) foram expostas a cinco concentrações de óleo de cravo (50, 75, 100, 125 e 150 mg L⁻¹). Os animais foram expostos individualmente a cada concentração sendo utilizadas seis fêmeas, seis machos e doze filhotes por concentração. Durante o procedimento de anestesia foram monitorados e avaliados três estágios de anestesia, do movimento natatório reduzido até a perda total do reflexo a estímulos. Após o procedimento de anestesia foram monitorados os tempos de recuperação e a mortalidade até 96h após anestesia. Para as fêmeas adultas, machos adultos e filhotes as concentrações recomendadas foram 75mg L⁻¹, 125 mg L⁻¹ e 75 mg L⁻¹, respectivamente.

Palavras-chave: eugenol, anestesia, peixes ornamentais, lebiste.

CHAPTER 1 - CLOVE OIL AS ANESTHETIC FOR GUPPY (*Poecilia reticulata*)**ABSTRACT**

In ornamental fish farming, the procedures performed during routine and/or experimental practices are essential, but they can cause damage to the fish in different proportions, leading to loss of appetite and weight, growth reduction and even death of animals. Thus, the use of anesthetics during these practices has been proved to be important. The clove oil is one of the natural anesthetics that have been very studied and its use arises from the need to find efficient alternative products to replace the synthetic anesthetic that can often cause harm to animals. Nevertheless, a factor that limits these products use is the lack of knowledge about the optimal concentrations for each specie, size and sex of the fish, including Guppy (*Poecilia reticulata*). Thus, to evaluate these parameters, three categories of Guppy (adult females, adults males and puppies) were exposed to five concentrations of clove oil (50, 75, 100, 125 e 150 mg L⁻¹). The animals were exposed individually to each concentration and it was used six females, six males and twelve puppies per concentration. During the anesthetic procedure it was monitored three stages of anesthesia, since the reduced swimming movement until total lack of reflex stimuli. After the procedure of anesthesia, it was monitored the recovery times and the mortality until 96 hours after anesthesia. The recommended concentration for females, males and puppies were 75 mg L⁻¹, 125 mg L⁻¹ e 75 mg L⁻¹, respectively.

Key words: eugenol, anesthesia, ornamental fish, lebiste.

1. INTRODUÇÃO

Na piscicultura tradicional, as práticas de manejos rotineiras como biometrias, transporte, exposição aérea e reprodução induzida expõem os peixes a uma variedade de fatores estressantes, que podem vir a afetar de forma negativa o seu desempenho, acarretando como consequências desde a perda do apetite e peso, redução no crescimento, aparecimento de doenças ou até mesmo a morte dos animais (BARCELLOS et al., 2000). Na piscicultura ornamental o estresse encontra-se como um dos principais causadores de morte dos animais. Diante disso, o conhecimento de métodos que permitam intervenções com o mínimo de interferência nas funções vitais e fisiológicas dos peixes vem se mostrando importante a fim de que a mortalidade seja minimizada durante o transporte ou manejo dos animais (CUNHA, 2007). Diversas substâncias, com propriedades diferentes, são frequentemente utilizadas como anestésicos para peixes, objetivando minimizar o estresse e facilitar o manejo (TEIXEIRA et al., 2011; FAÇANHA; GOMES, 2005).

Os anestésicos podem ser classificados quanto a sua origem em sintéticos e naturais. O estudo do uso de substâncias naturais, como o óleo de cravo, como anestésico na aquicultura surge da necessidade de se encontrar produtos alternativos eficazes em substituição aos anestésicos sintéticos utilizados, pois estes, muitas vezes podem ocasionar danos aos animais como perda de muco, irritação das brânquias e danos nas córneas dos organismos (TEIXEIRA et al. 2011). Estas substâncias naturais, geralmente são mais fáceis de serem encontradas e apresentam um custo relativamente menor na sua aquisição (ROUBACH et al., 2005).

O óleo de cravo é um dos anestésicos naturais mais utilizados em estudos. Extraído do caule, das flores e das folhas das espécies *Eugenia caryophyllata* e *E. aromatica* tem como princípio ativo o eugenol (4-alil-2-metoxifenol), considerado seguro para humanos, animais e o meio ambiente (KEENE, et al. 1998). Em estudo realizado por Barbosa et al. (2007), não foram encontrados traços tóxicos desse produto em animais aquáticos previamente expostos, além do fato de que outras áreas, como a odontologia, a indústria de alimentos e a fabricação de perfumes, utilizam amplamente o produto para humanos, sem a constatação de riscos, inclusive ambientais. Trata-se de um anestésico seguro, de grande eficácia, ampla margem de segurança para o peixe e ausência de toxicidade para o operador, nas doses recomendadas (VIDAL et al., 2007). Além disso, estudos indicam que o eugenol apresenta nos animais, curto tempo de indução e longo tempo de recuperação anestésica, ideais para procedimentos

mais demorados, comparado com o MS-222 (tricaína metanosulfonato), nas mesmas concentrações (KEENE et al., 1998).

A eficácia e segurança do óleo de cravo vêm sendo descritas na literatura para diversas espécies de peixes comerciais incluindo pintado (*Pseudoplatystoma corruscans*) (VIDAL et al., 2006), matrinxã (*Brycon amazonicus*) (VIDAL et al., 2007), pampo (*Trachinotus marginatus*) (OKAMOTO et al., 2009) e pacu (*Piaractus mesopotamicus*) (ROTILI et al., 2012). Porém, apesar do grande número de trabalhos relacionados ao emprego do óleo de cravo como anestésico para peixes poucas são as referências feitas a peixes ornamentais, sendo nenhuma referência feita aos Guppies (*Poecilia reticulata*).

O guppy é uma espécie originária do Norte da América do Sul (ALVES et al., 2000), sendo considerada um dos peixes ícones do aquarismo com grande aceitação e popularidade por parte de seus praticantes em todo o mundo (RIBEIRO et al., 2010). O guppy vem sendo destacado como uma das espécies mais procuradas para embelezar os ambientes por possuir uma grande variedade de cores e fácil manejo em criação.

Diante do exposto, observa-se que a utilização de anestésicos para o manejo de peixes ornamentais, ainda vem sendo pouco estudada e são difíceis de encontrar informações na literatura. Delbon (2006) verificou que são vários os fatores que podem influenciar na eficácia de um anestésico nos animais como o conteúdo de gordura, o tamanho do corpo, idade e sexo dos organismos. Diante disso, fica evidenciada a necessidade de estudos com anestésicos em peixes ornamentais, definindo as concentrações e anestésicos ideais para cada espécie, assim como o efeito dessas substâncias nas diferentes classes de tamanhos e sexo dos mesmos, para tentar minimizar o estresse e a mortalidade dos peixes.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Utilizar o óleo de cravo como anestésico para diferentes categorias nos Guppy (*Poecilia reticulata*), sendo elas: fêmeas adultas, machos adultos e filhotes.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Definir qual a concentração ideal para o uso de óleo de cravo para machos, fêmeas e filhotes de guppy.

Verificar os tempos de indução e recuperação dos animais.

Verificar a mortalidade após a utilização de diferentes concentrações do anestésico.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Espécie estudada

Guppy (*Poecilia reticulata*)

3.2. Local do experimento

O experimento foi desenvolvido no laboratório de Aquariorfilia da Universidade Federal do Pampa, Campus Uruguaiana, Uruguaiana, Estado do Rio Grande do Sul, realizado em outubro de 2013.

3.3. Animais

Para realização do experimento foram utilizadas 30 fêmeas adultas (comprimento total médio = $3,63 \pm 0,23$ cm e peso médio $0,543 \pm 0,116$ g), 30 machos adultos (comprimento total médio = $3,58 \pm 0,22$ cm e peso médio $0,289 \pm 0,083$ g) e 60 filhotes (comprimento total médio = $1,58 \pm 0,23$ cm e peso médio $0,039 \pm 0,019$ g) de guppy (*Poecilia reticulata*) (Figuras 1, 2 e 3 respectivamente) provenientes da reprodução de fêmeas de guppy puras do Laboratório de Aquariorfilia da Universidade Federal do Pampa, Campus Uruguaiana.

Figura 1 - Exemplar de fêmea adulta de guppy
(*Poecilia reticulata*).



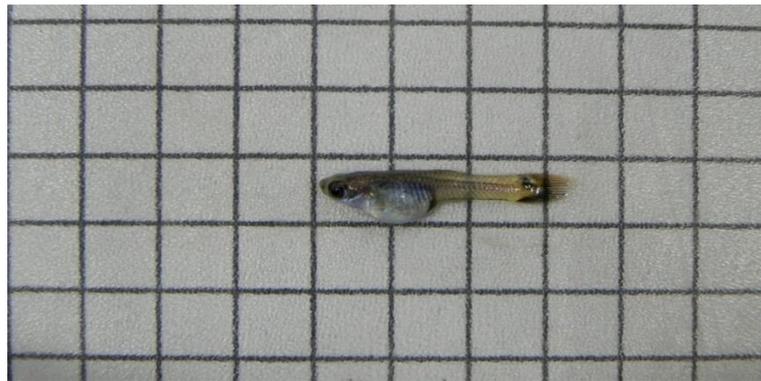
Fonte: Arquivos pessoais, AQUAPAMPA, 2013.

Figura 2 - Exemplar de macho adulto de guppy
(*Poecilia reticulata*).



Fonte: Arquivos pessoais, AQUAPAMPA, 2013.

Figura 3 - Exemplar de filhote de guppy
(*Poecilia reticulata*).



Fonte: Arquivos pessoais, AQUAPAMPA, 2013.

Os animais foram separados nas suas respectivas categorias (fêmeas, machos e filhotes) e aclimatados durante 7 dias, em um sistema de aquários com recirculação da água (Figura 4), com capacidade de 450 litros. A alimentação foi ofertada diariamente com ração comercial floclada para peixes ornamentais, as 9:00 e 17:00 horas, à vontade. Diariamente, foi realizada a sifonagem para retirada de fezes, sendo renovada 10% da água de cada aquário se necessário.

Figura 4 - Sistema de aquários utilizado para aclimatação.

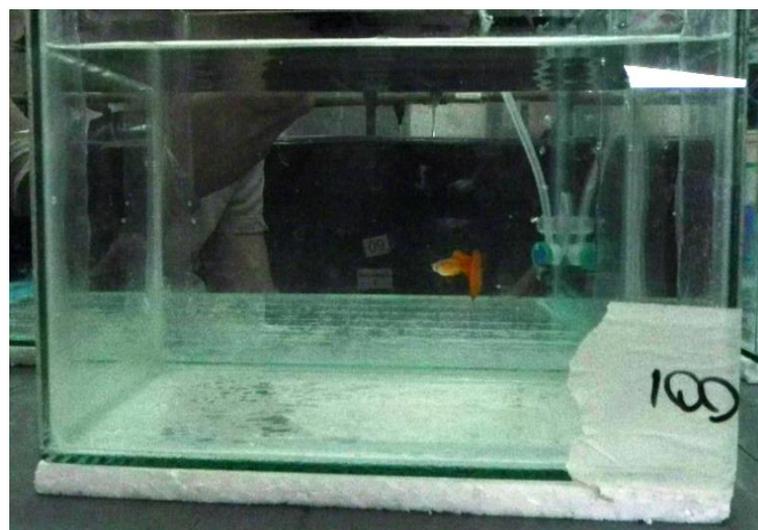


Fonte: Arquivos pessoais, AQUAPAMPA, 2013.

3.4. Indução e Recuperação Anestésica

Para a indução anestésica, foram utilizados aquários (Figura 5), contendo 3L de água, onde se diluiu o anestésico nas concentrações estabelecidas para o experimento. As dosagens de óleo de cravo foram preparadas individualmente, 10 minutos antes da realização do experimento, e diluídas nos respectivos aquários de induções anestésicas. Para cada concentração foi utilizado um aquário de indução e um de recuperação (Figura 6).

Figura 5 - Aquário utilizado para indução anestésica.



Fonte: Arquivos pessoais, AQUAPAMPA, 2013.

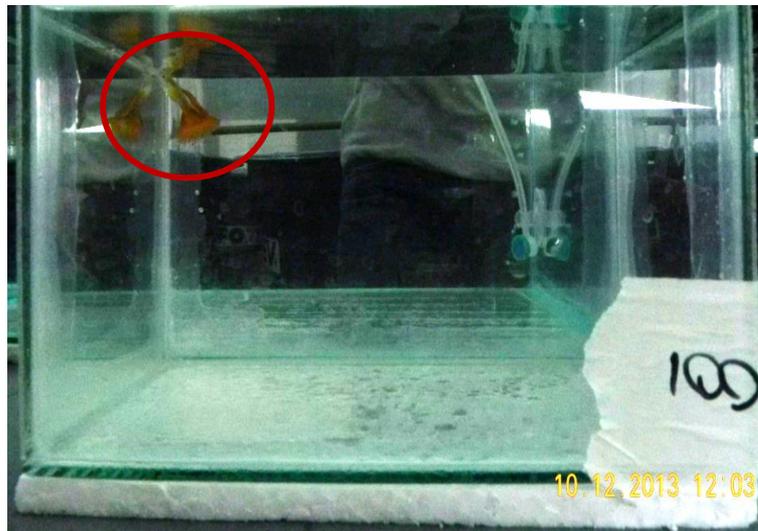
Figura 6 - Bateria de aquários de indução e recuperação anestésica (aquários menores para indução e maiores para recuperação).



Fonte: Arquivos pessoais, AQUAPAMPA, 2013.

Para cada tratamento, foram utilizados 6 espécimes de fêmeas, 6 espécimes de machos e 12 espécimes de filhotes ($n=6$, $n=6$ e $n=12$, respectivamente), escolhidos aleatoriamente no sistema de aclimação e submetidos, um a cada vez, às concentrações de 50, 75, 100, 125 e 150 mg L⁻¹ de óleo de cravo. A anestesia e a recuperação dos peixes foram divididas em três fases que se distinguiram por um conjunto de sinais peculiares a cada uma. O tempo necessário para o aparecimento dos padrões comportamentais avaliados foi monitorado por meio de cronômetro digital. Os parâmetros observados para indução foram: movimento natatório reduzido, reação a estímulos externos e equilíbrio normal (a nadadeira caudal do animal sofre uma inclinação e o mesmo não consegue retornar a posição normal de nado) (Figura 7); perda do movimento muscular e do equilíbrio, redução do movimento opercular e do reflexo a estímulos externos (Figuras 8); perda total dos reflexos a estímulos externos e movimento opercular quase ausente (Figura 9). A ausência de reação a qualquer estímulo foi verificada pelo toque na lateral dos peixes com um pincel (Figura 9). Após o tempo de exposição ao anestésico, os animais foram retirados da água e colocados em outro aquário (Figura 6), contendo 20L de água, com aeração constante e sem anestésico, para avaliação do tempo de recuperação dos peixes.

Figura 7 - Peixe representando o Estágio 1 de indução anestésica (movimento natatório reduzido).



Fonte: Arquivos pessoais, AQUAPAMPA, 2013.

Figura 8 - Peixe representando o Estágio 2 de indução anestésica (perda do movimento muscular e do equilíbrio).



Fonte: Arquivos pessoais, AQUAPAMPA, 2013.

Figura 9 - Peixe representando o Estágio 3 de indução anestésica (perda total do reflexos a estímulos externos).



Fonte: Arquivos pessoais, AQUAPAMPA, 2013.

Os estágios observados para indução e recuperação da anestesia estão descritos no Quadro 1. Após o restabelecimento dos animais, os peixes foram recolocados no sistema de recirculação, onde foram mantidos com aeração constante e alimentação durante 96 horas para monitoramento e mensuração da mortalidade.

Quadro 1 - Características comportamentais em peixes em três estágios de anestesia e recuperação.

Estágio	Indução	Recuperação
1	Movimento natatório reduzido, reação a estímulos externos e equilíbrio normal	Leve recuperação do movimento opercular e movimentos natatórios
2	Perda do movimento muscular e do equilíbrio, redução do movimento opercular e dos reflexos a estímulos externos	Recuperação do equilíbrio e leve reação a estímulos externos
3	Perda total dos reflexos a estímulos externos e movimento opercular quase ausente	Movimento e equilíbrio natatório normais

Fonte: Okamura et al. (2010).

3.5. Concentrações

As concentrações de óleo de cravo determinadas para este estudo, foram escolhidas uma vez que estas dosagens estão entre as mais aplicadas em estudos com anestesia profunda de peixes. As soluções foram diluídas em álcool etílico (99,8%). A quantidade de cada ingrediente utilizado para as diluições pode ser observada na Tabela 1 e foi determinada de acordo com Delbon (2006).

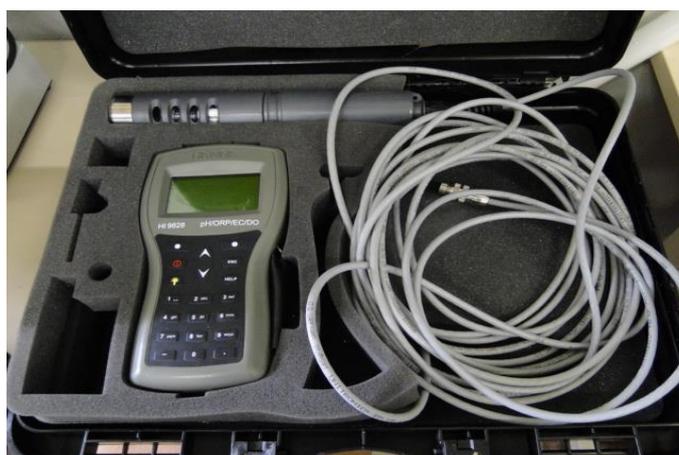
Tabela 1 - Ingredientes utilizados para a formulação das concentrações anestésicas para indução a anestesia profunda de guppys (*Poecilia reticulata*).

Ingredientes	Óleo de cravo (mg L ⁻¹)				
	50	75	100	125	150
Óleo de cravo (mL)	0,150	0,225	0,300	0,375	0,450
Etanol (mL)	1,35	2,025	2,7	3,375	4,05
Água (L)	3	3	3	3	3

3.6. Parâmetros Limnológicos

Durante o período experimental, foram monitorados os parâmetros físico-químicos da água das unidades experimentais, mensurando-se de hora em hora a temperatura, oxigênio dissolvido e pH com a utilização de um multiparâmetro (Figura 10).

Figura 10 – Multiparâmetro.

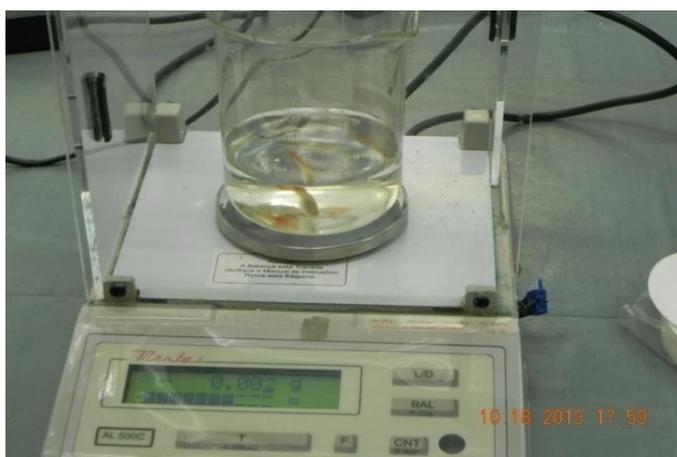


Fonte: Arquivos pessoais, AQUAPAMPA, 2013.

3.7. Biometria

A biometria para mensurar comprimento e peso dos animais foi realizada após o período de observação de 96 horas dos espécimes, ao fim do experimento, não sendo realizada antes para evitar qualquer interferência no resultado do teste, uma vez que o tempo experimental seria curto e pelo fato de podermos utilizar doses não letais aos animais, considerando que não se conhecia na literatura qual seria a melhor dosagem para realizar a anestesia da espécie. Para realização da biometria os animais foram retirados dos aquários e anestesiados com óleo de cravo na concentração de 100 mg L^{-1} , durante aproximadamente 1 minuto. O peso e o comprimento total dos animais foram determinados com uma balança analítica (Figura 11), com precisão de 3 casas decimais, e com um paquímetro digital (Figura 12), respectivamente.

Figura 11 - Balança analítica.



Fonte: Arquivos pessoais, AQUAPAMPA, 2013.

Figura 12 - Paquímetro digital.



Fonte: Arquivos pessoais, AQUAPAMPA, 2013.

3.8. Delineamento experimental e Análise estatística

O experimento foi desenvolvido em delineamento de blocos casualizados, avaliando cinco doses de óleo de cravo (50, 75, 100, 125 e 150 mg L⁻¹) aplicada em peixes de três categorias (blocos): fêmeas adultas (comprimento total médio = 3,63 ± 0,23 cm e peso médio 0,543 ± 0,116 g), machos adultos (comprimento total médio = 3,58 ± 0,22 cm e peso médio 0,289 ± 0,083 g) e filhotes (comprimento total médio = 1,58 ± 0,23 cm e peso médio 0,039 ± 0,019 g). O experimento foi dividido em 15 tratamentos (5 doses × 3 categorias). Foram realizadas a análise de variância e a média foi comparada pelo teste de tukey (5%). Os dados estão apresentados como média ± o erro padrão da média (SAS 9.0).

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os parâmetros físicos e químicos da água foram mensurados durante o experimento e permaneceram em $8,49 \pm 0,02$ para o pH, dentro do considerado ideal para espécie por Millidge (1998), $6,45 \pm 0,09$ mg L⁻¹ para o oxigênio dissolvido, dentro do considerado ideal para peixes ornamentais por Zuanon et al. (2004) e $29,95 \pm 0,27^\circ\text{C}$ para a temperatura, dentro do indicado por Botelho (1992).

4.1. Análise dos resultados da anestesia nas fêmeas

Analisando os resultados de forma independente dentro de cada estágio, nos momentos de indução e recuperação, foram observadas diferentes respostas entre as classes (idades, gêneros) nos tratamentos, entretanto, não sendo possível estabelecer um padrão único de dose-resposta entre fêmeas, machos e filhotes.

Analisando a Tabela 2, pode se verificar que em todas as concentrações de óleo de cravo (50, 75, 100, 125 e 150 mg L⁻¹) as fêmeas atingiram o Estágio 3 da indução anestésica, caracterizado por anestesia profunda, não respondendo a nenhum estímulo externo. Não houve mortalidade de fêmeas durante ou após os testes. As dosagens de 75 mg L⁻¹ a 150 mg L⁻¹ não diferiram entre si e mostraram-se eficientes para indução a anestesia profunda de fêmeas, esses resultados foram similares aos recomendados, por Roubach e Gomes (2001), que indicam como ideal o tempo de até 3 minutos para indução a anestésica dos animais. Indica-se assim, para indução a anestesia de fêmeas, a dosagem de 75 mg L⁻¹, por apresentar um menor gasto do anestésico, se comparada as dosagens superiores. A dosagem de 50 mg L⁻¹, apresentou o maior tempo de indução anestésica (4,58 minutos), diferindo ($P < 0,05$) das dosagens superiores, exceto na de 75 mg L⁻¹, não sendo indicada assim para indução de fêmeas por apresentar tempo de indução superior ao indicado pelos autores supracitados. Não houve diferença significativa ($P > 0,05$) nos tempos de recuperação para fêmeas, indicando a inexistência de relação com as concentrações anestésicas, ou seja, independente da concentração anestésica a recuperação das fêmeas ocorre no mesmo tempo. Em todas as concentrações de óleo de cravo as fêmeas recuperaram em menos de 10 minutos, dentro do tempo considerado ideal por Ross e Ross (2008) e Park et al. (2003).

Tabela 2 - Tempo de indução (em minutos) e recuperação de fêmeas adultas de guppy expostas a diferentes concentrações de óleo de cravo.

Óleo de cravo (mg L ⁻¹)	Indução			Recuperação		
	Estágio 1	Estágio 2	Estágio 3	Estágio 1	Estágio 2	Estágio 3
50	1,47 ± 0,23 ^a	2,98 ± 0,78 ^a	4,58 ± 0,47 ^a	0,65 ± 0,28 ^a	1,70 ± 0,62 ^a	5,78 ± 1,48 ^a
75	1,00 ± 0,22 ^{ab}	2,07 ± 0,55 ^{ab}	2,92 ± 0,68 ^{ab}	0,80 ± 0,25 ^a	2,10 ± 0,47 ^a	4,02 ± 0,58 ^a
100	0,67 ± 0,12 ^b	1,22 ± 0,17 ^b	2,77 ± 0,50 ^b	1,12 ± 0,40 ^a	2,20 ± 0,53 ^a	3,95 ± 0,80 ^a
125	0,63 ± 0,10 ^b	1,02 ± 0,10 ^b	1,72 ± 0,23 ^b	0,72 ± 0,10 ^a	1,95 ± 0,42 ^a	3,60 ± 0,48 ^a
150	0,50 ± 0,07 ^b	0,68 ± 0,07 ^b	1,32 ± 0,17 ^b	0,90 ± 0,18 ^a	2,03 ± 0,38 ^a	3,62 ± 0,50 ^a

Valores médios ± erro padrão. Médias seguidas de mesma letra, na mesma coluna, não diferem entre si ao nível de 5% de significância pelo teste de Tukey.

4.2. Análise dos resultados da anestesia nos machos

Em todas as concentrações de óleo de cravo (50, 75, 100, 125 e 150 mg L⁻¹) os machos atingiram o Estágio 3 da indução anestésica, caracterizado como estágio de anestesia profunda, não respondendo a nenhum estímulo externo (Tabela 3). As concentrações de 50 mg L⁻¹, 75 mg L⁻¹ e 150 mg L⁻¹ de óleo de cravo resultaram na morte de 4,17, 8,33 e 4,17% dos machos do total de animais do experimento, respectivamente. Resultados semelhantes quanto a mortalidade foram encontrados por Bittencourt et al. (2012), que ao testar a eficiência do fármaco em quinguios (*Carassius auratus*) observou a mortalidade de 25% dos animais quando expostos a concentração de 75 mg L⁻¹, além de apresentar longo tempo de recuperação. O que corrobora com os resultados do presente estudo, onde uma possível explicação para essa mortalidade, pode ter sido o longo tempo de exposição do animal ao anestésico nas concentrações de 50 mg L⁻¹ e 75 mg L⁻¹, que mesmo diferindo entre si (P<0,05), sendo a mais alta a de 50 mg L⁻¹ (11,17 minutos), a concentração de 75 mg L⁻¹ (3,92 minutos) ultrapassou o tempo ideal de indução a anestesia determinado por Roubach e Gomes (2001). A concentração de 150 mg L⁻¹ pode ter ocasionado a mortalidade dos animais devido a uma possível sensibilidade dos machos a essa concentração anestésica, sendo a máxima utilizada no experimento. Vidal et al. (2006), ao anestesiarem juvenis de Pintado (*Pseudoplatystoma corruscans*) nas concentrações de 25, 50, 75 e 100 mg L⁻¹, observaram a mortalidade de 16,67% dos animais na maior concentração testada, sugerindo que em doses elevadas, a substância pode se tornar tóxica aos peixes.

As dosagens de 100 mg L⁻¹ e 125 mg L⁻¹ não diferiram entre si e mostraram-se eficientes para indução a anestesia profunda de machos, sem causar mortalidade dos animais. Porém, a dosagem de 100 mg L⁻¹ ultrapassou em poucos segundos o tempo de indução

considerado ideal por Roubach e Gomes (2001), assim, podemos inferir que a dosagem de 125 mg L⁻¹ poderia ser a dosagem utilizada para indução de machos de guppy. A dosagem de 50 mg L⁻¹, assim como nas fêmeas, apresentou o maior tempo de indução anestésica (11,17 minutos), diferindo (P<0,05) das demais dosagens, não sendo indicada assim para indução de machos por apresentar tempo de indução superior ao indicado.

Nos machos, do mesmo modo que nas fêmeas, não houve diferença significativa (P>0,05) nos tempos de recuperação para as diferentes concentrações, indicando a inexistência de relação da recuperação com as concentrações anestésicas. Em todas as concentrações de óleo de cravo os machos recuperam em menos de 10 minutos, preenchendo os requisitos sugeridos por Ross e Ross (2008) e Park et al. (2003).

Tabela 3 - Tempo de indução (em minutos) e recuperação de machos adultos de guppy expostos a diferentes concentrações de óleo de cravo.

Óleo de cravo (mg L ⁻¹)	Indução			Recuperação		
	Estágio 1	Estágio 2	Estágio 3	Estágio 1	Estágio 2	Estágio 3
50	0,57 ± 0,08 ^a	3,52 ± 0,57 ^a	11,17 ± 2,70 ^a	1,32 ± 0,47 ^a	4,58 ± 1,12 ^a	9,68 ± 1,95 ^a
75	0,73 ± 0,07 ^a	1,90 ± 0,20 ^b	3,92 ± 0,37 ^b	0,98 ± 0,38 ^a	3,37 ± 0,72 ^a	6,67 ± 0,75 ^a
100	0,67 ± 0,07 ^a	1,88 ± 0,52 ^b	3,02 ± 0,22 ^b	1,57 ± 0,53 ^a	3,20 ± 0,35 ^a	7,87 ± 1,00 ^a
125	0,53 ± 0,08 ^a	1,22 ± 0,17 ^b	2,08 ± 0,20 ^b	1,37 ± 0,28 ^a	2,55 ± 0,30 ^a	5,65 ± 0,62 ^a
150	0,43 ± 0,05 ^a	0,77 ± 0,08 ^b	1,65 ± 0,18 ^b	1,43 ± 0,15 ^a	2,98 ± 0,35 ^a	6,18 ± 0,85 ^a

Valores médios ± erro padrão. Médias seguidas de mesma letra, na mesma coluna, não diferem entre si ao nível de 5% de significância pelo teste de Tukey.

4.3. Análise dos resultados da anestesia nos filhotes

Em todas as concentrações de óleo de cravo (50, 75, 100, 125 e 150 mg L⁻¹) os filhotes atingiram o Estágio 3 da indução anestésica, caracterizado por anestesia profunda, não respondendo a nenhum estímulo externo (Tabela 4). Não houve mortalidade de filhotes durante ou após os testes. Assim como para machos e fêmeas, a concentração de 50 mg L⁻¹ foi a que proporcionou o maior tempo de indução aos animais (3,05 minutos), diferindo das maiores concentrações (P<0,05), exceto da de 75 mg L⁻¹.

As concentrações de 75 a 150 mg L⁻¹ mostram-se eficientes para indução a anestesia profunda de filhotes, dentro do tempo considerado ideal por Roubach e Gomes (2001), dessa forma, por questões econômicas, indica-se para indução de filhotes a concentração de 75 mg L⁻¹. Nos filhotes, assim como nas fêmeas e nos machos, não houve diferença significativa

($P > 0,05$) nos tempos de recuperação para as diferentes concentrações, indicando a inexistência de relação da recuperação dos animais com as concentrações anestésicas. Em todas as concentrações de óleo de cravo os filhotes recuperam em menos de 10 minutos, dentro do tempo sugerido por Ross e Ross (2008) e Park et al. (2003).

Tabela 4 - Tempo de indução (em minutos) e recuperação de filhotes de guppy expostos a diferentes concentrações de óleo de cravo.

Óleo de cravo (mg L ⁻¹)	Indução			Recuperação		
	Estágio 1	Estágio 2	Estágio 3	Estágio 1	Estágio 2	Estágio 3
50	0,55 ± 0,08 ^a	1,60 ± 0,07 ^a	3,05 ± 0,22 ^a	0,90 ± 0,20 ^b	3,05 ± 0,60 ^a	6,38 ± 1,00 ^a
75	0,52 ± 0,07 ^a	0,97 ± 0,07 ^b	1,87 ± 0,15 ^{ab}	0,77 ± 0,13 ^b	2,77 ± 0,42 ^a	5,65 ± 0,65 ^a
100	0,35 ± 0,05 ^{ab}	0,65 ± 0,07 ^c	1,40 ± 0,10 ^{bc}	1,05 ± 0,13 ^b	3,03 ± 0,45 ^a	5,63 ± 0,72 ^a
125	0,28 ± 0,03 ^b	0,48 ± 0,07 ^c	1,15 ± 0,10 ^c	1,37 ± 0,23 ^{ab}	3,48 ± 0,63 ^a	6,73 ± 0,95 ^a
150	0,32 ± 0,03 ^{ab}	0,62 ± 0,05 ^c	1,10 ± 0,08 ^c	2,12 ± 0,33 ^a	3,77 ± 0,45 ^a	7,25 ± 1,07 ^a

Valores médios ± erro padrão. Médias seguidas de mesma letra, na mesma coluna, não diferem entre si ao nível de 5% de significância pelo teste de Tukey.

Diversos autores constataram redução no tempo necessário para anestesia de peixes, à medida que se aumentava a concentração anestésica (VIDAL et al., 2007; ROTILI et al. 2012; CHAMBEL et al., 2013). Resultados semelhantes aos encontrados no presente estudo onde o maior tempo de indução foi observado na menor dose testada para fêmeas (4,58 minutos; 50 mg L⁻¹), para machos (11,17 minutos; 50 mg L⁻¹) e para filhotes (3,05 minutos; 50 mg L⁻¹), sendo que os menores tempos 1,32 minutos para fêmeas, 1,65 minutos para machos e 1,10 minutos para filhotes foram observados na dose de 150 mg L⁻¹, dosagem máxima utilizada no experimento, demonstrando que as menores doses de óleo de cravo tendem a aumentar o tempo de indução anestésica para anestesia de guppies.

No presente estudo houve diferenças significativas ($P < 0,05$) entre as concentrações para indução de fêmeas, machos e filhotes (Tabelas 2, 3, 4), entretanto, não foram observadas diferenças para recuperação, o que indica que para a espécie o tempo de recuperação independe da concentração anestésica. Resultado que corrobora com o encontrado por Rotili et al. (2012), Vidal et al. (2007) e Kaiser et al. (2006), porém que difere do encontrado por Bittencourt et al. (2012), onde ao anestésiar juvenis de quinguios (*Carassius auratus*), os tempos de recuperação mostraram-se dependentes da concentração, onde quanto menor a dose anestésica maior o tempo de indução para anestesia e menor para recuperação dos animais. Gomes et al. (2001) e Fagundes (2009), observaram também que o tempo de recuperação do

peixe é influenciado pelo tempo de exposição ao fármaco e que o tempo de recuperação apresenta um aumento significativo com o aumento das concentrações do anestésico.

A utilização de anestésicos nas práticas e manejos (como as biometrias, separação de lotes, indução hormonal) na piscicultura ornamental, torna-se cada vez mais indispensável, pois facilita o manejo permitindo uma manipulação segura e precisa dos animais, que normalmente ao passarem por estes processos enfrentam diversos períodos estressantes o que enfraquece a intensidade da sua cor e vigor, características primordiais para sua comercialização. Diante disso o óleo de cravo vem mostrando eficiência na anestesia de várias espécies de peixes, tornando-se um agente promissor como anestésico. Além disso, a utilização de óleo de cravo ainda vem sendo estudada em substituição de outros anestésicos, a exemplo, a benzocaína. De acordo com estudo realizado por Gonçalves et al. (2008), as doses de 50 mg L⁻¹ e 100 mg L⁻¹ de óleo de cravo, apresentaram tempos de indução iguais aos da dose de 100 mg L⁻¹ de benzocaína, diferindo apenas, no tempo de recuperação para a dose de 100 mg L⁻¹ de óleo de cravo.

Estudos com concentrações anestésicas ideais para peixes ornamentais ainda apresentam-se incipientes, demonstrando aos poucos um maior interesse dos pesquisadores pelo assunto. Em estudo realizado com Zebrafish (*Danio rerio*), Guppy (*Poecilia reticulata*), Discu (*Symphysodon discus*) e Espada (*Xiphophorus helleri*) com MS-222 como agente anestésico, verificou-se que nas concentrações de 75, 100, 125, 150, 200 e 250 mg L⁻¹, houve diferença nas doses ideais de uma espécie para a outra. Sendo para *Danio rerio* indicada as concentrações de 75, 100 e 125 mg L⁻¹, para *Poecilia reticulata* 125, 150 e 200 mg L⁻¹, para *Symphysodon discus* 75 e 100 mg L⁻¹ e para *Xiphophorus helleri* 125 e 150 mg L⁻¹ (CHAMBEL, et al., 2013). Para *Pterophyllum scalare* a concentração de óleo de cravo apresentada como ideal após a indução de 40 animais as concentrações de 20, 30, 40 e 50 mg L⁻¹, foi a de 40 mg L⁻¹ (OCAMPO et al., 2012).

Observa-se que os resultados obtidos no presente estudo, referentes à concentração ideal para indução anestésica, diferiram dos encontrados para peixes comerciais por Okamoto et al. (2009), Pereira-da-Silva et al. (2009), Vidal et al. (2006) e Gonçalves (2008), onde ao testarem o óleo de cravo em juvenis de pampo (*Trachinotus marginatus*), alevinos de lambari (*Astyanaxaltiparanae*), juvenis de pintado (*Pseudoplatystoma corruscans*) e juvenis de pacu (*Piaractus mesopotamicus*), respectivamente, obtiveram resultados positivos ao utilizarem as concentrações de 50ppm para pampo e 50 mg L⁻¹ para lambari, pintado e pacu. Observa-se assim, a variabilidade de respostas ao anestésico entre espécies e a importância da realização de estudos específicos que encontrem as concentrações ideais para cada uma delas. Cunha

(2007) corrobora com os valores citados, onde a concentração de 50 mg L^{-1} também se faz segura para o jundiá por baixar os níveis de cortisol no sangue do animal.

Dentre as diversas opções de anestésicos disponíveis, o óleo de cravo mostrou-se eficiente na latência dos guppys, pelo fato de o fármaco não ter causado mortalidade de fêmeas e filhotes, apenas de machos em determinadas concentrações e, pelos animais terem recuperado o sentido “normal” posteriormente a exposição.

5. CONCLUSÕES

O óleo de cravo mostrou-se eficiente na latência dos guppys (*Poecilia reticulata*). Dessa forma as concentrações recomendadas são: 75 mg L⁻¹ para fêmeas, 125 mg L⁻¹ para machos e 75 mg L⁻¹ para filhotes.

6. REFERÊNCIAS

ALVES, D. R. et al. Ocorrência de *Camallanus cotti* (Nematoda: Camallanidae) parasitando o guppy *Poecilia reticulata* (Osteichthyes: Poeciliidae) no Brasil. **Revista da Universidade Federal Rural -Série Ciências da Vida**, v.22, p.77-79, 2000.

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

BARCELLOS, L. J. G.; SOUZA, S.M.G. de; WOEHL, V. M. Estresse em peixes: fisiologia da resposta ao estresse, causas e consequências (Revisão). **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 26, n. 1, p. 99-111, 2000.

BITTENCOURT, F. et al. Benzocaine and eugenol as anesthetics for golden fish (*Carassius auratus*). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 64, n. 6, p. 1597-1602, 2012.

BOTELHO, G. F. **Aquários**. São Paulo: Nobel, 1997.

CHAMBEL, J. et al. The efficacy of MS-222 as anaesthetic agent in four freshwater aquarium fish species. **Aquaculture Research**, 2013.

CUNHA, M. A. **Anestesia em jundiás (*Rhamdia quelen*) expostos a substâncias isoladas de plantas**. Dissertação (Mestrado em Zootecnia)-Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2007.

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

FAÇANHA, M. F.; GOMES, L. de C. Efficacy of menthol as an anesthetic for tambaqui (*Colossoma macropomum*, Characiformes: Characidae). **Acta Amazonica**, v. 35, n. 1, p. 71-75, 2005.

FAGUNDES, M. **Estudos fisiológicos e metabólicos do estresse de manejo do pintado (*Pseudoplatystoma corruscans*)**. Tese (Doutorado em Aquicultura) Centro de Aquicultura da Unesp/Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, São Paulo, 2009.

GOMES, L. C. et al. Efficacy of Benzocaine as an Anesthetic in Juvenile Tambaqui *Colossoma macropomum*. **Journal of the World Aquaculture society**, v. 32, n. 4, 2001.

GONÇALVES, A. F. N. et al. Mentol e eugenol como substitutos da benzocaína na indução anestésica de juvenis de pacu. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v. 30, n. 3, p. 339-344, 2008.

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

KAISER, H. et al. Testing clove oil as an anaesthetic for long-distance transport of live fish: the case of the Lake Victoria cichlid *Haplochromis obliquidens*. **Journal of Applied Ichthyology**, v. 22, n. 6, p. 510-514, 2006.

KEENE, J. L. et al. The efficacy of clove oil as an anaesthetic for rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). **Aquaculture Research**, v. 29, n. 2, p. 89-101, 1998.

MILLIDGE, J. **Peixes de aquário de água doce – Guia prático**. São Paulo: Nobel, 1998.

OCAMPO, L. M. et al. Anesthetic concentration of eugenol in angelfish (*Pterophyllum scalare*). **Revista de Investigaciones Veterinarias del Peru**, v. 23, n. 2, p. 171-181, 2012.

OKAMOTO, M. H. et al. Benzocaína e eugenol como anestésicos para juvenis do pampo *Trachinotus marginatus*. **Ciência Rural**, v. 39, n. 3, 2009.

OKAMURA, D. et al. Influência da concentração de benzocaína e do comprimento dos peixes na anestesia e na recuperação de tilápias-do-nilo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, n.5, p.971-976, 2010.

PARK, I. S. et al. Anaesthetic effect of lidocaine hydrochloride-sodium bicarbonate and MS-222 on the greenling (*Hexagrammos otakii*). **Journal of the Korean Fisheries Society**, v. 36, p. 449-453, 2003.

PEREIRA-DA-SILVA, E. M. et al. Efeito anestésico do óleo de cravo em alevinos de lambari. **Ciência Rural**, v. 39, n. 6, p. 1851-1856, 2009.

RIBEIRO, F. de A. S.; LIMA, M. T.; FERNANDES, C. J. B. K. Panorama do mercado de organismos aquáticos ornamentais. **Boletim Sociedade Brasileira de Limnologia**, Mossoró, v.38, n.2, p. 1-9, 2010.

ROSS, L. G.; ROSS, B. **Anaesthetic and sedative techniques for aquatic animals**, 2008.

ROTILI, D. A. et al. Uso de eugenol como anestésico em pacu. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 42, n. 3, p. 288-294, 2012.

ROUBACH, R. et al. Eugenol as a efficacious anaesthetic for tambaqui, *Colossoma macropomum* (Cuvier). **Aquaculture Research**, v. 36, n. 11, p. 1056-1061, 2005.

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.

TEIXEIRA, E. G.; MOREIRA, A. G. L.; MOREIRA, R. L.; LIMA, F. R. dos S. Mentol como anestésico para diferentes classes de tamanho de tilápiao nilo. **Archives of Veterinary Science**, v. 16, n.2, 2011.

VIDAL, L. V. O. et al. Eugenol como anestésico para juvenis de matrinxã (*Brycon cephalus*). **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 8, n. 4, 2007.

VIDAL, L. V. O. et al. Utilização do eugenol como anestésico para o manejo de juvenis de pintado (*Pseudoplatystoma corruscans*). **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v. 28, n. 3, p. 275-279, 2006.

ZUANON, J. A. S.; ASSANO, M.; FERNANDES, J. B. K. Desempenho de tricogaster (*Trichogaster trichopterus*) submetido a diferentes níveis de arraçoamento e densidades de estocagem. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 33, p. 1639-1645, 2004.

CAPÍTULO 2 – O USO DO MENTOL COMO ANESTÉSICO PARA GUPPY (*Poecilia reticulata*)

RESUMO

A criação de peixes ornamentais vem se destacando no mercado mundial e nacional, sendo uma atividade que possui baixo custo de implantação e elevada rentabilidade para piscicultores. O crescente interesse na atividade leva com que os piscicultores procurem práticas mais eficientes de manejo e uma forma de minimizar o estresse causado por esses manejos durante as atividades que requerem a captura e a retirada dos animais da água é a utilização de anestésicos. Dentre os anestésicos utilizados, o mentol vem sendo utilizado como uma alternativa à sedação de peixes, por ser um anestésico de fácil aquisição e baixo custo. Porém, para peixes ornamentais, como o Guppy (*Poecilia reticulata*), não são encontrados trabalhos que relacionam as dosagens de anestésicos com o tamanho, idade ou gênero da espécie. Diante disso o objetivo do presente estudo foi avaliar a possibilidade do uso do mentol como anestésico para diferentes categorias nos Guppys, sendo elas: fêmeas adultas, machos adultos e filhotes. Os animais (seis fêmeas, quatro machos e oito filhotes por concentração) foram expostos individualmente a cinco concentrações (50, 100, 150, 200 e 250 mg L⁻¹) de mentol. Foram avaliados os tempos de indução e recuperação dos animais e a mortalidade até 96h horas após o experimento. Os resultados indicam que o mentol pode ser utilizado para anestesia de guppys. Recomenda-se que as concentrações para filhotes, fêmeas e machos adultos seja a de 150 mg L⁻¹.

Palavras-chave: anestesia, anestésicos naturais, lebiste, peixes ornamentais.

CHAPTER 2 - MENTOL AS ANESTHETIC FOR GUPPY (*Poecilia reticulata*)

ABSTRACT

The ornamental fish farming has been highlighted in world and national market, being an activity of low cost of deployment and high profitability for fish farmers. The growing interest in the activity leads the fish farmers to search more efficient practices of management. One way to minimize the stress caused during the activities that require capture and water remove of animals is the use of anesthetics. Among the anesthetics, mentol has been used as an alternative to fish sedation, because it is easily founded and has low costs. However, for ornamental fish, as Guppy (*Poecilia reticulata*), there were not found studies about anesthetic concentrations and size, age and gender of animals. Therefore, the objective of present study was evaluate the possibility of mentol use as anesthetic for different Guppys categories, as adult females, adult males and puppies. The animals (six females, four males and eight puppies per concentration) was exposed individually to five mentol concentrations (50, 100, 150, 200 e 250 mg L⁻¹). It was evaluated the induction and recovery times and mortality until 96 hours after the experiment. The results indicate that mentol can be used for anesthesia of guppys. It was recommended the concentration of 150 mg L⁻¹ for females, males and puppies.

Key words: anesthesia, natural anesthetics, lebiste, ornamental fish.

1. INTRODUÇÃO

Dentre as atividades da aquicultura, a piscicultura se destaca como uma das atividades mais tradicionais, possuindo também um importante papel social como um meio de subsistência fundamental de diversas comunidades. Dentro da piscicultura, a criação de peixes ornamentais vem ganhando um destaque na aquicultura mundial e nacional. De acordo com Rezende (2010) é um ramo que possui um baixo custo de implantação e elevada rentabilidade para piscicultores (geralmente agricultores familiares), o que pode proporcionar uma forma alternativa de renda resultando em melhorias nas condições de vida. Dentro desta produção o Kingiuo (*Carassius auratus*), o Betta (*Betta splendens*) e o Guppy (*Poecilia reticulata*), destacam-se como espécies consideradas ícones do aquarismo com grande aceitação e popularidade por parte de seus praticantes em todo o mundo (RIBEIRO et al., 2010). O guppy, em especial, é uma espécie que vem se destacando, por ser altamente prolifera e resistente aos manejos diários de uma piscicultura, destacando-se ainda pela grande diversidade de cores e linhagens existentes dentro da espécie, características fundamentais para uma espécie ornamental de grande valor.

De acordo com a literatura, o crescente interesse na atividade leva com que os piscicultores procurem práticas mais eficientes de manejo com a finalidade de atender a demanda do mercado produzindo peixes com maior sanidade e pigmentação da pele. Visto que, durante os processos que constituem a produção (despesca, transporte e comercialização), os animais passam por diversos períodos extremamente estressantes o que enfraquece a intensidade da sua cor e o seu vigor (REZENDE, 2010).

Sendo assim faz-se importante os estudos que procurem alternativas para minimizar o estresse nos manejos diários de uma piscicultura, visto que durante estes processos, o estresse está sempre presente, podendo provocar como respostas terciárias, queda no sistema reprodutivo e imunológico e conseqüentemente o surgimento de doenças nos peixes. As práticas de manejo como biometrias, separação ou contagem do lote e transporte dos animais são as principais causadoras do estresse e precisam ser realizadas com muito cuidado na tentativa de minimizar o problema (DINIZ; HONORATO, 2012). Uma forma de minimizar o estresse causado por esses manejos durante as atividades que requerem a captura e a retirada dos animais da água seria a utilização de anestésicos. Diversas substâncias com propriedades diferentes vêm sendo frequentemente utilizadas com o objetivo de reduzir o estresse e facilitar a manipulação dos peixes (FAÇANHA; GOMES, 2005).

Dentre os anestésicos utilizados, o mentol vem se destacando com uma alternativa à sedação de peixes, por ser um anestésico de fácil aquisição e baixo custo. Segundo Matos (2000), é uma substância extraída de óleos essenciais da planta *Menta (Mentha arvensis L.)*, planta medicinal e aromática com várias aplicações industriais, entre elas, propriedades anestésicas, antiespasmódicas, antiinflamatórias, antiúlcera e antivirais, sendo de grande importância econômica na indústria farmacêutica (LORENZO et al., 2002) e também na alimentícia e de cosméticos (SIMÕES; GOMES, 2009). Vários estudos vêm apresentando a eficácia do mentol como anestésico para peixes comerciais. Em estudo realizado com juvenis de pacu, *Piaractus mesopotamicus* (GONÇALVES et al., 2008) e dourado, *Salminus brasiliensis* (PÁDUA et al., 2010) o anestésico mostrou-se eficiente para a indução a anestesia das espécies. Estudos realizados por Façanha e Gomes (2005) com tambaqui, indicaram uma ampla margem de segurança à utilização do anestésico, onde a exposição do animal ao mentol, em concentração adequada, pode durar até 30 minutos, sem causar mortalidade dos peixes.

A eficácia das substâncias anestésicas varia dentro dos organismos de uma mesma espécie ou entre espécies diferentes. Peixes com tamanho, idade e sexo distintos podem responder de forma diferente a uma concentração em particular (TEIXEIRA et al., 2011). Dessa forma, dependendo do tipo de anestésico, podemos ter diferentes concentrações para induzir o estágio de anestesia desejado. Para peixes ornamentais, como o Guppy, por exemplo, não são encontrados trabalhos que relacionam as dosagens de anestésicos com o tamanho, idade ou gênero da espécie, o que poderia vir a causar a mortalidade de indivíduos por uma possível diferença de sensibilidade a determinadas concentrações entre as categorias da espécie.

Diante do exposto, evidencia-se que os estudos realizados com a utilização de anestésicos para peixes ornamentais ainda são incipientes, ressaltando assim a necessidade da realização destes estudos, procurando as concentrações e anestésicos ideais para cada espécie, assim como o efeito dessas substâncias nas diferentes classes de tamanhos e sexo dos peixes, para tentar minimizar o estresse e a mortalidade dos animais quando expostos aos manejos de criação, obtendo uma melhor produção dos mesmos.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

Utilizar o mentol como anestésico para diferentes categorias nos Guppy (*Poecilia reticulata*), sendo elas: fêmeas adultas, machos adultos e filhotes.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Definir qual a concentração ideal para o uso de mentol para machos, fêmeas e filhotes de guppy.

Verificar os tempos de indução e recuperação dos animais.

Verificar a mortalidade após a utilização de diferentes concentrações do anestésico.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Espécie estudada

Guppy (*Poecilia reticulata*)

3.2. Local do experimento

O experimento foi desenvolvido no laboratório de Aquariorfilia da Universidade Federal do Pampa, Campus Uruguaiana, Uruguaiana, Estado do Rio Grande do Sul, realizado durante o mês de fevereiro de 2014.

3.3. Animais

Para realização do experimento foram utilizadas 30 fêmeas adultas (comprimento total médio = $3,18 \pm 0,22$ cm e peso médio $0,379 \pm 0,108$ g), 20 machos adultos (comprimento total médio = $3,36 \pm 0,27$ cm e peso médio $0,220 \pm 0,049$ g) e 40 filhotes (comprimento total médio = $1,52 \pm 0,23$ cm e peso médio $0,033 \pm 0,016$ g) de guppy (*Poecilia reticulata*) (Figuras 1, 2 e 3 respectivamente) provenientes da reprodução de fêmeas de guppy puras do Laboratório de Aquariorfilia da Universidade Federal do Pampa, Campus Uruguaiana.

Figura 1 - Exemplar de fêmea adulta de guppy
(*Poecilia reticulata*).



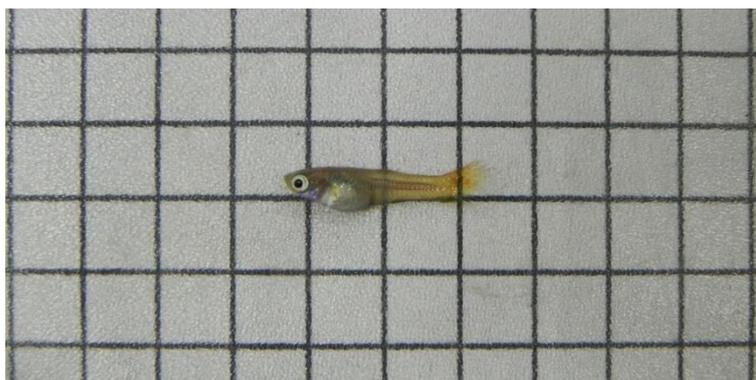
Fonte: Arquivos pessoais, AQUAPAMPA, 2014.

Figura 2 - Exemplar de macho adulto de guppy
(*Poecilia reticulata*).



Fonte: Arquivos pessoais, AQUAPAMPA, 2014.

Figura 3 - Exemplar de filhote de guppy
(*Poecilia reticulata*).



Fonte: Arquivos pessoais, AQUAPAMPA, 2014.

Os animais foram separados nas suas respectivas categorias (fêmeas, machos e filhotes) e aclimatados durante 7 dias, em um tanque com capacidade de 1000L de água. A alimentação foi ofertada diariamente com ração comercial floculada para peixes ornamentais, as 9:00 e 17:00 horas, à vontade.

3.4. Indução e Recuperação Anestésica

Para a indução anestésica, foram utilizados aquários (Figura 4), contendo 2,5L de água, onde se diluiu o anestésico nas concentrações estabelecidas para o experimento. As dosagens de mentol foram preparadas através de uma solução “mãe” e diluídas nos respectivos aquários de induções anestésicas, para cada concentração foi utilizado um aquário de indução e posteriormente um de recuperação (Figura 5).

Figura 4 - Aquário utilizado para indução anestésica.



Fonte: Arquivos pessoais, AQUAPAMPA, 2014.

Figura 5 - Aquários de indução e recuperação anestésica (aquários menores para indução e maiores para recuperação).

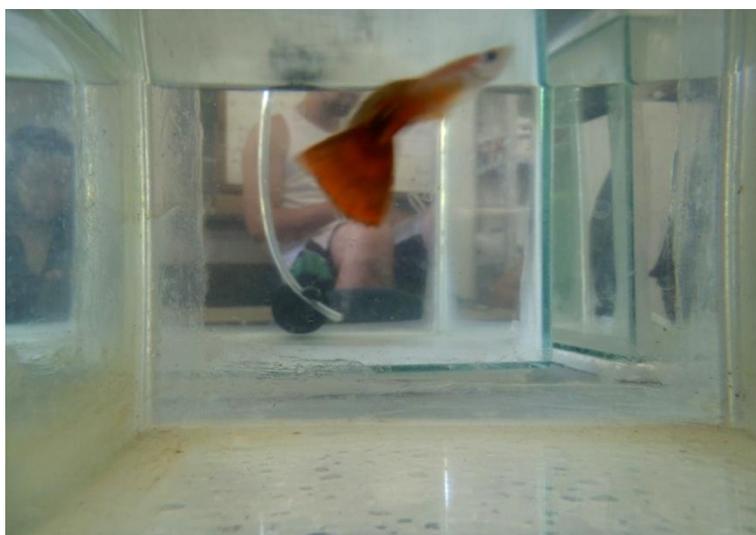


Fonte: Arquivos pessoais, AQUAPAMPA, 2014.

Para cada tratamento, foram utilizados 6 espécimes de fêmeas, 4 espécimes de machos e 8 espécimes de filhotes ($n=6$, $n=4$ e $n=8$, respectivamente), escolhidos aleatoriamente no tanque de aclimação e submetidos, um a cada vez, às concentrações de 50, 100, 150, 200 e 250 mg L⁻¹ de mentol. A anestesia e a recuperação dos peixes foram divididas em três fases que se distinguiram por um conjunto de sinais peculiares a cada uma. Os parâmetros observados para indução foram: movimento natatório reduzido, reação a estímulos externos e

equilíbrio normal (a nadadeira caudal do animal sofre uma inclinação e o mesmo não consegue retornar a posição normal de nado) (Figura 6); perda do movimento muscular e do equilíbrio, redução do movimento opercular e do reflexo a estímulos externos (Figuras 7); perda total dos reflexos a estímulos externos e movimento opercular quase ausente (Figura 8). A ausência de reação a qualquer estímulo foi verificada pelo toque na lateral dos peixes com um pincel.

Figura 6 - Peixe representando o Estágio 1 de indução anestésica (movimento natatório reduzido).



Fonte: Arquivos pessoais, AQUAPAMPA, 2014.

Figura 7 - Peixe representando o Estágio 2 de indução anestésica (perda do movimento muscular e do equilíbrio).



Fonte: Arquivos pessoais, AQUAPAMPA, 2014.

Figura 8 - Peixe representando o Estágio 3 de indução anestésica (perda total do reflexos a estímulos externos).



Fonte: Arquivos pessoais, AQUAPAMPA, 2014.

Após o tempo de exposição ao anestésico, os animais foram retirados da água e colocados no aquário de recuperação (Figura 5), contendo 7L de água, com aeração constante e sem anestésico, para avaliação do tempo de recuperação dos peixes. Os estágios observados para indução e recuperação dos animais estão descritos no Quadro 1. O tempo necessário para os animais atingirem os estágios de indução e recuperação anestésica foi monitorado por meio de um cronômetro digital.

Após o restabelecimento dos animais, os peixes foram colocados em aquários contendo 20L de água, separados por tratamento e tamanhos, onde foram mantidos com aeração constante e alimentação diária durante 96 horas após o experimento, para monitoramento e mensuração da mortalidade dos mesmos.

Quadro 1 - Características comportamentais em peixes em três estágios de anestesia e recuperação.

Estágio	Indução	Recuperação
1	Movimento natatório reduzido, reação a estímulos externos e equilíbrio normal	Leve recuperação do movimento opercular e movimentos natatórios
2	Perda do movimento muscular e do equilíbrio, redução do movimento opercular e dos reflexos a estímulos externos	Recuperação do equilíbrio e leve reação a estímulos externos
3	Perda total dos reflexos a estímulos externos e movimento opercular quase ausente	Movimento e equilíbrio natatório normais

Fonte: Okamura et al. (2010).

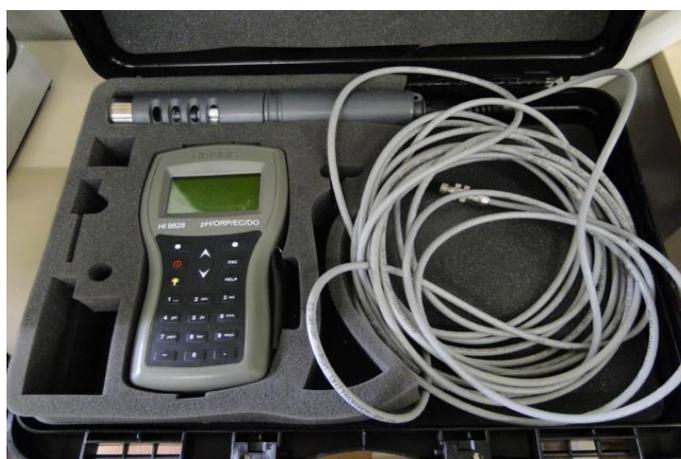
3.5. Concentrações

As concentrações de mentol utilizadas nesse experimento foram escolhidas de acordo com os trabalhos realizados em espécies de peixes comerciais, uma vez que, estas dosagens encontram-se entre as mais aplicadas em estudos com anestesia profunda de peixes. As soluções foram diluídas em álcool etílico (99,8%). Para preparação das soluções foi feita uma solução mãe, utilizando a proporção recomendada por Roubach e Gomes (2001), de 100 g de mentol para 1 litro de álcool.

3.6. Parâmetros Limnológicos

Durante o período experimental, os parâmetros físicos e químicos da água das unidades experimentais foram monitoradas, mensurando-se de hora em hora a temperatura, oxigênio dissolvido e pH com a utilização de um multiparâmetro da marca HANNA (Figura 9).

Figura 9 – Multiparâmetro.



Fonte: Arquivos pessoais, AQUAPAMPA, 2013.

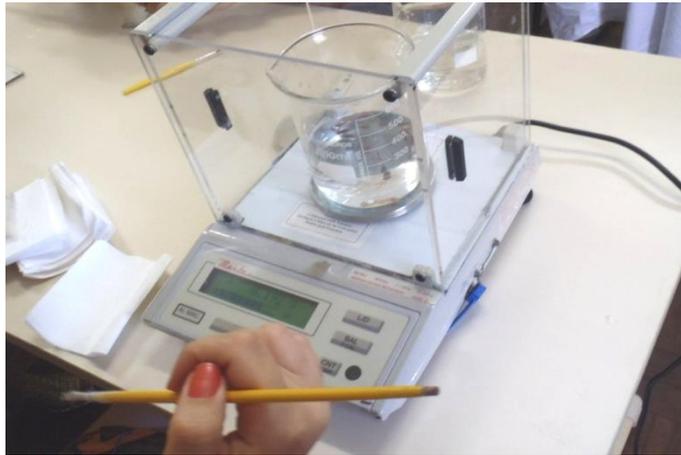
3.7. Biometria

A biometria para mensurar comprimento e peso dos animais foi realizada após o período de observação de 96 horas dos espécimes ao fim do experimento, não sendo realizada antes para evitar qualquer interferência no resultado durante o teste, uma vez que o tempo experimental seria curto e pelo fato de podermos utilizar doses não letais aos animais, uma vez que não se conhecia na literatura qual seria a melhor dosagem. Para realização da

biometria os animais foram retirados dos aquários e anestesiados com mentol na concentração de 150 mg L^{-1} , por aproximadamente 1 minuto.

O peso e o comprimento total dos animais foram determinados com uma balança analítica (Figura 10), com precisão de 3 casas decimais, e com um paquímetro digital (Figura 11), respectivamente.

Figura 10 - Balança analítica de precisão.



Fonte: Arquivos pessoais, AQUAPAMPA, 2014.

Figura 11- Paquímetro digital.



Fonte: Arquivos pessoais, AQUAPAMPA, 2014.

3.8. Delineamento experimental e Análise estatística

O experimento foi delineado em blocos casualizados para avaliar cinco doses de mentol ($50, 100, 150, 200$ e 250 mg L^{-1}) aplicada em peixes de três categorias (blocos): fêmeas adultas (comprimento total médio = $3,18 \pm 0,22 \text{ cm}$ e peso médio $0,379 \pm 0,108 \text{ g}$),

machos adultos (comprimento total médio = $3,36 \pm 0,27$ cm e peso médio $0,220 \pm 0,049$ g) e filhotes (comprimento total médio = $1,52 \pm 0,23$ cm e peso médio $0,033 \pm 0,016$ g) de guppy (*Poecilia reticulata*). O experimento foi composto de 15 tratamentos (5 doses \times 3 categorias). Foram realizados a análise de variância e a média foi comparada pelo teste de tukey (5%) (SAS 9.0).

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os parâmetros da água foram mantidos em pH $8,33\pm 0,06$, dentro da faixa considerada ideal para espécie indicada por Millidge (1998), oxigênio dissolvido $8,80\pm 0,48$, dentro indicado por Zuanon et al. (2004) e temperatura $28,02\pm 0,87$, dentro do intervalo considerado ideal para Botelho (1992).

4.1. Resultados da anestesia de fêmeas

Analisando os resultados de forma independente dentro de cada estágio, nos momentos de indução e recuperação, foram observadas diferentes respostas entre as classes (idades, gêneros) nos tratamentos, entretanto, não sendo possível estabelecer um padrão único de dose-resposta entre fêmeas, machos e filhotes.

Conforme a Tabela 1, para as fêmeas, todas as concentrações permitiram a passagem pela sequência de estágios anestésicos, exceto a de 50 mg L^{-1} , onde durante a exposição de 30 minutos à concentração, permitiu aos peixes atingirem apenas o Estágio 1, onde o movimento natatório mostrou-se reduzido, porém sem induzir o animal a anestesia profunda, dessa forma não apresentando também os estágios de recuperação. Segundo Roubach e Gomes (2001), o estágio normalmente utilizado para biometria, manuseio de peixes e reprodutores é o Estágio 3, caracterizado por anestesia profunda, devendo ser atingido entre 1 a 3 minutos. Sendo assim, apenas nas dosagens de 100, 150, 200 e 250 mg L^{-1} as fêmeas atingiram o estágio de anestesia profunda, não respondendo a nenhum estímulo externo. As dosagens de 150 mg L^{-1} a 250 mg L^{-1} não diferiram entre si e mostraram-se eficientes para indução a anestesia profunda de fêmeas, dentro do tempo considerado ideal. Entretanto, a dosagem de 100 mg L^{-1} apresentou o maior tempo de indução anestésica (10,12 minutos), diferindo ($P < 0,05$) das dosagens superiores, ultrapassando o tempo considerado ideal para indução anestésica, além de, ocasionar a morte de 100% das fêmeas expostas a mesma, mortes estas podendo ser justificadas devido ao longo tempo de exposição ao anestésico.

No presente estudo houve diferença significativa ($P < 0,05$) nos tempos de recuperação para fêmeas, indicando assim a relação com as concentrações anestésicas. Na concentração que proporcionou o maior tempo de anestesia (100 mg L^{-1}), houve também o maior tempo de recuperação (6,00 minutos) (Tabela 1), diferindo das concentrações superiores. Os tempos de recuperação das concentrações de 150 a 250 mg L^{-1} não diferiram entre si, apresentando tempos mais baixos que a concentração de 100 mg L^{-1} . Porém, em todas as concentrações de

mentol as fêmeas recuperam em menos de 10 minutos, preenchendo os requisitos sugeridos por Ross e Ross (2008) e Park et al. (2003) para os tempos de recuperação anestésica. Diante do exposto, sugere-se a utilização da concentração de 150 mg L⁻¹ para fêmeas adultas de guppy, por induzir e recuperar os espécimes dentro dos tempos considerados ideais sem causar a mortalidade das mesmas e por utilizar menos anestésico com o mesmo efeito dos demais tratamentos.

Tabela 1 - Tempo de indução (em minutos) e recuperação de fêmeas adultas de guppy expostas a diferentes concentrações de mentol.

Mentol (mg L ⁻¹)	Indução			Recuperação		
	Estágio 1	Estágio 2	Estágio 3	Estágio 1	Estágio 2	Estágio 3
50	0,96 ± 0,23 ^a	*	*	*	*	*
100	0,60 ± 0,07 ^{ab}	2,52 ± 0,47 ^a	10,12 ± 2,43 ^a	2,28 ± 0,62 ^a	3,38 ± 0,65 ^a	6,00 ± 1,18 ^a
150	0,55 ± 0,03 ^{ab}	1,03 ± 0,08 ^b	2,35 ± 0,55 ^b	0,75 ± 0,18 ^b	1,42 ± 0,18 ^b	2,67 ± 0,32 ^b
200	0,60 ± 0,07 ^{ab}	1,00 ± 0,05 ^b	1,70 ± 0,17 ^b	0,75 ± 0,12 ^b	1,78 ± 0,20 ^b	2,92 ± 0,27 ^b
250	0,48 ± 0,02 ^b	0,85 ± 0,03 ^b	1,43 ± 0,17 ^b	1,00 ± 0,23 ^{ab}	1,70 ± 0,13 ^b	2,97 ± 0,32 ^b

*Estágio não alcançado em 30 minutos. Valores médios ± erro padrão. Médias seguidas de mesma letra, na mesma coluna, não diferem entre si ao nível de 5% de significância pelo teste de Tukey.

4.2. Resultados da anestesia de machos

Em relação aos machos (Tabela 2), assim como nas fêmeas, a concentração de 50 mg L⁻¹ não foi suficiente para induzir, durante a exposição de 30 minutos, ao estágio de anestesia profunda (Estágio 3). As dosagens de 150 a 250 mg L⁻¹ não diferiram entre si e mostraram-se eficientes para indução a anestesia profunda dos machos dentro do tempo considerado ideal. Contudo, a dosagem de 100 mg L⁻¹ apresentou o maior tempo de indução anestésica (11,62 minutos), diferindo significativamente (P<0,05) das dosagens superiores, ultrapassando o tempo considerado ideal para indução anestésica. Em relação à sobrevivência, pode ser observado o mesmo perfil das fêmeas, com uma mortalidade de 100% dos machos expostos a concentração de 100 mg L⁻¹. Tal fato pode ter ocorrido devido ao longo tempo de exposição ao anestésico para atingir o estágio de indução, não sendo assim, recomendada a concentração de 100 mg L⁻¹ de mentol para adultos da espécie.

No que se refere à recuperação, no presente estudo houve diferença (P<0,05) nos tempos de recuperação para machos, indicando assim a relação com as concentrações anestésicas. Onde, a concentração de 100 mg L⁻¹ diferiu das superiores e apresentou o maior tempo de indução (11,62 minutos) e recuperação (6,80 minutos) (Tabela 2). Os tempos de

recuperação das concentrações de 150 a 250 mg L⁻¹ não diferiram entre si, apresentando tempos mais baixos que a concentração de 100 mg L⁻¹. Contudo, todas as concentrações de mentol recuperaram os animais dentro dos requisitos sugeridos por Ross e Ross (2008) e Park et al. (2003).

De acordo com os resultados obtidos, a concentração recomendada para machos adultos de guppy para anestesia voltada para biometrias e breves manejos é a de 150 mg L⁻¹, tendo em vista que a mesma apresentou tempo ideal de indução em 1,30 minutos e recuperação em 3,35 minutos, dentro dos limites de segurança.

Tabela 2 - Tempo de indução (em minutos) e recuperação de machos adultos de guppy expostos a diferentes concentrações de mentol.

Mentol (mg L ⁻¹)	Indução			Recuperação		
	Estágio 1	Estágio 2	Estágio 3	Estágio 1	Estágio 2	Estágio 3
50	1,20 ± 0,21 ^a	*	*	*	*	*
100	0,62 ± 0,05 ^b	1,33 ± 0,08 ^a	11,62 ± 2,57 ^a	1,75 ± 0,40 ^a	2,83 ± 0,52 ^a	6,80 ± 1,25 ^a
150	0,63 ± 0,02 ^b	0,85 ± 0,05 ^b	1,30 ± 0,17 ^b	0,78 ± 0,22 ^a	2,00 ± 0,67 ^a	3,35 ± 0,63 ^b
200	0,57 ± 0,05 ^b	0,85 ± 0,03 ^b	1,45 ± 0,15 ^b	1,08 ± 0,18 ^a	2,22 ± 0,38 ^a	3,52 ± 0,42 ^b
250	0,55 ± 0,03 ^b	0,92 ± 0,10 ^b	1,53 ± 0,23 ^b	0,97 ± 0,17 ^a	1,50 ± 0,05 ^a	3,48 ± 0,50 ^b

*Estágio não alcançado em 30 minutos. Valores médios ± erro padrão. Médias seguidas de mesma letra, na mesma coluna, não diferem entre si ao nível de 5% de significância pelo teste de Tukey.

4.3. Resultados da anestesia para filhotes

Para os filhotes (Tabela 3), a menor concentração (50 mg L⁻¹) de mentol, não foi suficiente para induzir os indivíduos ao estágio de anestesia profunda, confirmando que, para o Guppy, independente do sexo ou tamanho, a concentração de 50 mg L⁻¹ não induz os animais ao Estágio 3 de indução em até 30 minutos de exposição ao anestésico. A dosagem de 100 mg L⁻¹ apresentou o maior tempo de indução anestésica (4,60 minutos), diferindo significativamente (P<0,05) das dosagens superiores, ultrapassando o tempo considerado ideal para indução anestésica. As dosagens de 150 a 250mg L⁻¹ não diferiram entre si e mostraram-se eficientes para indução a anestesia profunda dos filhotes dentro do tempo considerado ideal. Porém, a dose de 250 mg L⁻¹, a máxima utilizada no experimento, ocasionou a mortalidade de 100% dos filhotes, sugerindo assim a toxicidade da concentração para os filhotes de guppy, não sendo recomendada a utilização dessa concentração.

No presente estudo, não houve diferença significativa (P>0,05) nos tempos de recuperação para filhotes, indicando que independente da dosagem utilizada nesse estudo, os

animais recuperaram da mesma forma. Em todas as concentrações de mentol os filhotes recuperaram em menos de 10 minutos, preenchendo os requisitos sugeridos por Ross e Ross (2008) e Park et al. (2003).

Diante do exposto, sugere-se a utilização da concentração de 150 mg L⁻¹ para filhotes de guppy, por induzir e recuperar as espécimes dentro dos tempos considerados ideais sem causar a mortalidade dos mesmas.

Tabela 3 - Tempo de indução (em minutos) e recuperação de filhotes de guppy expostos a diferentes concentrações de mentol.

Mentol (mg L ⁻¹)	Indução			Recuperação		
	Estágio 1	Estágio 2	Estágio 3	Estágio 1	Estágio 2	Estágio 3
50	0,95 ± 0,18 ^a	*	*	*	*	*
100	0,50 ± 0,07 ^{ab}	2,50 ± 0,45 ^a	4,60 ± 0,67 ^a	2,00 ± 0,48 ^a	2,92 ± 0,57 ^a	5,40 ± 0,42 ^a
150	0,67 ± 0,15 ^{ab}	1,20 ± 0,17 ^b	2,22 ± 0,28 ^b	2,03 ± 0,38 ^a	4,63 ± 0,58 ^a	6,58 ± 0,57 ^a
200	0,47 ± 0,03 ^{ab}	0,83 ± 0,13 ^b	1,57 ± 0,18 ^b	2,63 ± 0,55 ^a	4,47 ± 0,78 ^a	6,42 ± 0,93 ^a
250	0,37 ± 0,02 ^b	0,68 ± 0,08 ^b	1,52 ± 0,15 ^b	2,80 ± 0,63 ^a	4,83 ± 0,33 ^a	7,15 ± 0,47 ^a

*Estágio não alcançado em 30 minutos. Valores médios ± erro padrão. Médias seguidas de mesma letra, na mesma coluna, não diferem entre si ao nível de 5% de significância pelo teste de Tukey.

Verificando os resultados encontrados da concentração ideal de mentol para a anestesia de fêmeas adultas, machos adultos e filhotes de guppy, observa-se que a dose indicada para as três categorias foi a de 150 mg L⁻¹. Porém, ressalta-se que, mesmo que a dose anestésica recomendada seja a mesma, houve diferença nas respostas em tempo, obtidas dentro de cada fase de indução e recuperação nas diferentes concentrações entre as três categorias, assim como nas doses que ocasionaram mortalidade dos animais, validando assim a realização da análise individual das três categorias e podendo, dessa forma, de acordo com o manejo a ser realizado escolher o melhor tratamento.

Resultados semelhantes no que diz respeito às concentrações ideais foram encontrados por Gonçalves et al. (2008), que testando diferentes concentrações de mentol (50, 100, 150 e 200 mg L⁻¹) como possível substituto da benzocaína na indução anestésica de pacus (*Piaractus mesopotamicus*), determinou como concentrações eficientes as de 100, 150 e 200 mg L⁻¹. De acordo com o autor, observou-se que as concentrações citadas são eficientes em substituição a benzocaína, exceto a de 50 mg L⁻¹, sendo o único tratamento que não obteve, durante nenhum estágio, eficiência próxima a da benzocaína, sendo esta concentração menos eficiente para anestésiar juvenis de pacu, o que corrobora com o presente estudo, onde a mesma concentração (50 mg L⁻¹) não foi capaz de induzir a anestesia profunda de guppys.

Souza et al. (2012), trabalhando com juvenis de robalo peva (*Centropomus parallelus*), também encontrou resultados semelhantes, onde ao anestésiar os animais nas concentrações de 50, 100, 150 e 200 mg L⁻¹ de mentol, encontrou como concentração mínima ideal a de 150 mg L⁻¹, por apresentar tempo de indução menor, se comparada as concentrações inferiores (50 e 100 mg L⁻¹) e não apresentar mortalidade dos animais. Para tambaqui (*Colossoma macropomum*), a concentração mínima adequada para a indução a anestesia cirúrgica dos animais, onde os batimentos o operculares cessam, também foi a de 150 mg L⁻¹, obtendo tempo menor de indução (2,16 minutos) se comparada a concentração de 100 mg L⁻¹ (4,39 minutos). Porém para indução a anestesia profunda, estágio utilizado para realização de manejos e biometrias, a concentração recomendada foi de 100 mg L⁻¹ (FAÇANHA; GOMES, 2005), diferindo dos resultados encontrados no presente estudo onde a concentração de 100 mg L⁻¹ juntamente com a de 50 mg L⁻¹ não mostraram-se eficientes para indução dos peixes.

Em estudo realizado por Teixeira et al. (2011) avaliando o mentol como anestésico para três diferentes classes de tamanho de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), os autores encontraram concentrações ideais diferentes para cada classe, sendo elas 60 mg L⁻¹ para alevinos, 180 mg L⁻¹ para juvenis e 240 mg L⁻¹ para adultos, estando de acordo com o citado por Delbon (2006), que afirma serem vários os fatores que podem influenciar na eficácia de um anestésico nos animais como o conteúdo de gordura, o tamanho do corpo, idade e sexo dos organismos. Porém, dependendo do anestésico testado e da espécie avaliada estas variáveis podem ou não manter efeito sobre a indução dos animais. Okamura et al. (2010), ao testar a influência da concentração de benzocaína na indução e recuperação da anestesia em tilápias de diferentes comprimentos observou que as diferenças de comprimento não influenciaram de forma significativa os tempos de anestesia e recuperação dos animais.

No que diz respeito ao tempo de indução anestésica, diversos autores constataram redução no tempo necessário para anestesia de peixes, à medida que se aumentava a concentração anestésica (GOMES et al., 2001; GIMBO et al., 2008; ROTILI et al. 2012), resultados semelhantes aos encontrados no presente estudo para fêmeas e filhotes, porém não para machos. Mello et al. (2012), ao avaliarem o mentol como anestésico para juvenis machos revertidos de tilápias (*Oreochromis niloticus*) observaram que com o aumento da concentração o tempo de indução foi reduzido, até uma determinada dosagem onde ocorreu uma estabilização nas concentrações maiores.

No presente estudo, para filhotes (Tabela 3), não houve diferença significativa ($P > 0,05$) no período de recuperação. Porém, para fêmeas e machos (Tabela 1 e 2,

respectivamente), a concentração de 100 mg L⁻¹, diferiu das demais, apresentando tempo maior de recuperação, confirmando assim ser a concentração menos eficiente para indução e recuperação anestésica de guppys, por induzir e recuperar os animais em tempos relativamente altos, fora dos considerados ideais por Roubach e Gomes (2001). No estudo realizado por Gonçalves et al. (2008), no período de recuperação não houve diferença estatística entre as concentrações, porém na concentração de 50 mg L⁻¹ de mentol, os peixes levaram mais tempo (126s) para voltarem a nadar normalmente e na de 200 mg L⁻¹ a recuperação mostrou-se mais rápida (81,2s), o que está de acordo com os resultados encontrados pra os espécimes adultos (machos e fêmeas) do presente estudo, onde a menor concentração testada proporcionou o maior tempo de recuperação dos animais e a maior concentração um dos menores tempos. Corroborando com o encontrado por Mello et al. (2012), onde ao anestésiar tilápias (*Oreochromis niloticus*) observou que a utilização de concentrações crescentes de mentol proporcionou uma redução no tempo para que os animais atingissem os estágios de recuperação anestésica.

Em estudos realizados verificando os níveis de segurança da utilização do mentol como anestésico, diversos autores vêm encontrando resultados positivos. Façanha e Gomes (2005) ao expor tambaquis, em até 30 minutos, a concentração ideal de 150 mg L⁻¹, não obtiveram mortalidade dos mesmos. Simões e Gomes (2009), ao testarem o dobro da concentração ideal (250 mg L⁻¹, sendo o dobro 500 mg L⁻¹) para juvenis de tilápias (*Oreochromis niloticus*) não observaram a morte dos indivíduos, indicando assim uma boa margem de segurança para utilização desse anestésico, devendo ser levado em conta que estas margens podem variar entre espécies. Esses estudos deixam claro o potencial de utilização desse anestésico e demonstram que o mesmo seria mais seguro e menos agressivo para ser utilizado na piscicultura.

5. CONCLUSÕES

Os resultados indicam que o mentol pode ser utilizado para anestesia de guppies (*Poecilia reticulata*). Recomenda-se a utilização da concentração de 150 mg L^{-1} para as três categorias (fêmeas, machos e filhotes).

6. REFERÊNCIAS

BOTELHO, G. F. **Aquários**. São Paulo: Nobel, 1997.

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

DINIZ, N. M.; HONORATO, C. A. Algumas alternativas para diminuir os efeitos do estresse em peixes de cultivo - Revisão. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da Unipar**, Umuarama, v. 15, n. 2, p. 149-154, 2012.

FAÇANHA, M. F.; GOMES, L. de C. Efficacy of menthol as na anesthetic for tambaqui (*Colossoma macropomum*, Characiformes: Characidae). **Acta Amazonica**, v. 35, n. 1, p. 71-75, 2005.

GIMBO, Rodrigo et al. Diferentes concentrações de benzocaína na indução anestésica do lambari-do-rabo-amarelo (*Astyanaxaltiparanae*). **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.9, n.2, p. 350-357, 2008.

GOMES, L. C. et al. Efficacy of Benzocaine as an Anesthetic in Juvenile Tambaqui *Colossoma macropomu*. **Journal of the World Aquaculture society**, v. 32, n. 4, 2001.

GONÇALVES, A. F. N. et al. Mentol e eugenol como substitutos da benzocaína na indução anestésica de juvenis de pacu. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v. 30, n. 3, p. 339-344, 2008.

LORENZO, D. et al. Essential oils of *Mentha pulegium* and *Mentha rotundifolia* from Uruguay. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 45, n.4, p. 519-524, 2002.

MATOS, F.J.A. Plantas medicinais: guia de seleção e emprego de plantas usadas em fitoterapia no Nordeste do Brasil. 2ª Ed. **Imprensa Universitária- UFC**. 344p, 2000.

MELLO, R.de A. et al. Avaliação de 2-fenoxietanol e mentol como agentes anestésicos em tilápias. **Boletim do Instituto de Pesca**, São Paulo, v. 38, n. 1, p. 53-59, 2012.

MILLIDGE, J. **Peixes de aquário de água doce – Guia prático**. São Paulo: Nobel, 1998.

OKAMURA, D. et al. Influência da concentração de benzocaína e do comprimento dos peixes na anestesia e na recuperação de tilápias-do-nilo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, n.5, p.971-976, 2010.

PÁDUA, S. B.de et al. Mentol como anestésico para dourado (*Salminus brasiliensis*). **Boletim do Instituto de Pesca, São Paulo**, v. 36, n. 2, p. 143-148, 2010.

PARK, I. S. et al. Anaesthetic effect of lidocaine hydrochloride-sodium bicarbonate and MS-222 on the greenling (*Hexagrammos otakii*). **Journal of the Korean Fisheries Society**, v. 36, p. 449-453, 2003.

REZENDE, F. P. **Intensificação da coloração em peixes ornamentais com uso de rações enriquecidas com pigmentos naturais**. Tese (Doutorado em Zootecnia), Departamento de Zootecnia, Universidade Federal de Viçosa, 2010.

RIBEIRO, F. de A. S.; LIMA, M. T.; FERNANDES, C. J. B. K. Panorama do mercado de organismos aquáticos ornamentais. **Boletim Sociedade Brasileira de Limnologia**, Mossoró, v.38, n.2, p. 1-9, 2010.

ROSS, L. G.; ROSS, B. **Anaesthetic and sedative techniques for aquatic animals**, 2008.

ROTILI, D. A. et al. Uso de eugenol como anestésico em pacu. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, 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.

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

SOUZA, R. A. R. et al. Efeito comparativo da benzocaína, mentol e eugenol como anestésicos para juvenis de robalo peva. **Boletim do Instituto de Pesca, São Paulo**, v. 38, n. 3, p. 247-255, 2012.

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

TEIXEIRA, E. G.; MOREIRA, A. G. L.; MOREIRA, R. L.; LIMA, F. R. dos S. Mentol como anestésico para diferentes classes de tamanho de tilápido nilo. **Archives of Veterinary Science**, v. 16, n.2, 2011.

ZUANON, J. A. S.; ASSANO, M.; FERNANDES, J. B. K. Desempenho de tricogaster (*Trichogaster trichopterus*) submetido a diferentes níveis de arraçoamento e densidades de estocagem. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 33, p. 1639-1645, 2004.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os experimentos realizados com anestésicos naturais (óleo de cravo e mentol) indicam que os mesmos podem ser utilizados com eficácia no manejo de Guppys (*Poecilia reticulata*). Mas para que isso seja feito de forma eficiente, devemos estar atentos ao fato de que fêmeas, machos e filhotes, respondem de forma diferente as diferentes concentrações de anestésicos, deixando claro que para cada categoria de peixe utilizado, concentrações anestésicas diferentes podem ser consideradas ideais, levando em consideração tempos de indução e recuperação e o comportamento animal pós indução anestésica e mortalidade dos mesmos. Por mais que pareça um manejo simples, a utilização de concentrações erradas de anestésico para diferentes categorias pode ocasionar a mortalidade de 100% dos animais em até 96 horas após a sua utilização. Fato que pode ser evidenciado com a realização do presente trabalho, onde para o óleo de cravo houve mortalidade apenas de machos, nas concentrações de 50, 75 e 150 mg L⁻¹, não ocorrendo o mesmo com fêmeas e filhotes. Todavia, para o mentol, ocorrendo mortalidade de fêmeas e machos na concentração de 100 mg L⁻¹ e de filhotes na concentração de 250 mg L⁻¹.

No presente trabalho fica clara a possibilidade da utilização do óleo de cravo e do mentol como uma nova alternativa de anestésico para a espécie. Para óleo de cravo as concentrações ideais para a indução e recuperação a anestesia de fêmeas, machos e filhotes foram 75, 125 e 75 mg L⁻¹, respectivamente. Já para a utilização do mentol a melhor concentração encontrada foi a de 150 mg L⁻¹ para as três categorias.

Fazendo uma comparação numérica e verificando visualmente o comportamento dos animais entre os experimentos, pudemos observar ainda que o mentol, quando utilizado nas concentrações ideais para os peixes, proporcionou uma melhor recuperação aos animais onde os mesmos aparentemente voltavam a sua condição “normal” de forma mais rápida, demonstrando que esse anestésico poderia ser mais eficiente e menos agressivo para a espécie escolhida.

Dessa forma, novos estudos deveriam ser realizados para verificar qual o tipo de anestésico e a melhor concentração para as diferentes espécies de peixes ornamentais garantindo assim uma melhor produção, minimizando o estresse do manejo, resultando em peixes mais saudáveis.

REFERÊNCIAS GERAIS

ALVES, D. R. et al. Ocorrência de *Camallanus cotti* (Nematoda: Camallanidae) parasitando o guppy *Poecilia reticulata* (Osteichthyes: Poeciliidae) no Brasil. **Revista da Universidade Federal Rural -Série Ciências da Vida**, v.22, p.77-79, 2000.

ANDERSON, W. G; MCKINLEY, R. S; COLAVECCHIA, M. The Use of Clove Oil as an Anesthetic for Rainbow Trout and Its Effects on Swimming Performance. **North American Journal of Fisheries Management**, v.17, p.301-307, 1997.

BALDISSEROTTO, B. Piscicultura continental no Rio Grande do Sul: situação atual, problemas e perspectivas para o futuro. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 39, n. 1, p.291-299, 2009.

BITTENCOURT, F. et al. Benzocaine and eugenol as anesthetics for golden fish (*Carassius auratus*). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 64, n. 6, p. 1597-1602, 2012.

CAMARGO, S. G. O. de; POUHEY, J. L. O. F. Aquicultura – Um mercado em Expansão. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 11, n. 4, p. 393-396, 2005.

CARDOSO, R. S. **Caracterização da aquicultura ornamental na Zona da Mata Mineira**. Dissertação (Mestrado em Produção Animal) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2011.

CARNEIRO, M.H. **A sustentabilidade das alternativas de aqüicultura e pesca**. Instituto de Pesca, São Paulo, Sér. Relat. Téc. N. 03, 2000.

COE, C. de M.; FREITAS, M. C. de; ARAÚJO, R. C. P. de. Diagnóstico da cadeia produtiva de peixes ornamentais no município de Fortaleza, Ceará. **Magistra**, Cruz das Almas, v. 23, n. 3, p. 107-114, 2011.

CONTE, F. S. Stress and the welfare of cultured fish. **Applied Animal Behaviour Science**, v. 86, n. 3, p. 205-223, 2004.

CORRÊA, C. F. et al. Caracterização e situação atual da cadeia de produção da piscicultura do Vale do Ribeira. **Informações Econômicas**, São Paulo, v.38, n.5, p. 30-36, 2008.

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

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

GOMES, L. C. et al. Efficacy of Benzocaine as an Anesthetic in Juvenile Tambaqui *Colossoma macropomu*. **Journal of the World Aquaculture society**, v. 32, n. 4, 2001.

IBAMA. **Diagnóstico geral das práticas de controle ligadas a exploração, captura, comercialização, exportação e uso de peixes para fins ornamentais e de aquariorfilia**. Brasília Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis, Diretoria de Uso Sustentável da Biodiversidade e Florestas. Coordenador: Clemeson Pinheiro. Brasília, 217p, 2008.

LIMA, A. O.; BERNARDINO, G.; PROENÇA, C. E. M. de. Agronegócio de peixes ornamentais. **Revista Panorama da Aquicultura**, v. 11, n. 65, p. 14-24, 2011.

LORENZO, D. et al. Essential oils of *Mentha pulegium* and *Mentha rotundifolia* from Uruguay. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 45, n.4, p. 519-524, 2002.

MATOS, F.J.A. Plantas medicinais: guia de seleção e emprego de plantas usadas em fitoterapia no Nordeste do Brasil. 2ª Ed. **Imprensa Universitária – UFC**, 344p, 2000.

MAZEAUD, M. M.; MAZEAUD, F.; DONALDSON, E. M. Primary and secondary effects of stress in fish: some new data with a general review. **Transactions of the American Fisheries Society**, v. 106, n. 3, p. 201-212, 1977.

MOMMSEN, T. P.; VIJAYAN, M. M.; MOON, T. W. Cortisol in teleosts: dynamics, mechanisms of action, and metabolic regulation. **Reviews in Fish Biology and Fisheries**, v. 9, n. 3, p. 211-268, 1999.

OBA, E. T.; MARIANO, W. dos S.; SANTOS, L. R. B. dos. Estresse em peixes cultivados: agravantes e atenuantes para o manejo rentável. In: **Manejo e sanidade de peixes em cultivo**. Macapá: **Embrapa Amapá**, p. 226-247, 2009.

OKAMURA, D. et al. Influência da concentração de benzocaína e do comprimento dos peixes na anestesia e na recuperação de tilápias-do-nilo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, n.5, p.971-976, 2010.

OLIVEIRA, R. F.; GALHARDO, L. Sobre a aplicação do conceito de bem-estar a peixes teleósteos e implicações para a piscicultura. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, p. 77-86, 2007.

REZENDE, F. P. **Intensificação da coloração em peixes ornamentais com uso de rações enriquecidas com pigmentos naturais**. Tese (Doutorado em Zootecnia), Departamento de Zootecnia, Universidade Federal de Viçosa, 2010.

RIBEIRO, F. de A. S. et al. Comércio brasileiro de peixes ornamentais. **Revista Panorama da Aquicultura**, v.18, n.110, p. 54-59, 2008^a.

RIBEIRO, F. de A. S. Panorama mundial do mercado de peixes ornamentais. **Revista Panorama da Aquicultura**, v.18, n.108, p. 32-37, 2008^b.

RIBEIRO, F. de A. S.; LIMA, M. T.; FERNANDES, C. J. B. K. Panorama do mercado de organismos aquáticos ornamentais. **Boletim Sociedade Brasileira de Limnologia**, Mossoró, v.38, n.2, p. 1-9, 2010.

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.

SELYE, Hans. Stress and the general adaptation syndrome. **British medical journal**, v. 1, n. 4667, p. 1383, 1950.

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

WENDELAAR BONGA, S.E. The stress response in fish. **Physiological Reviews**, v.33, n.3, p. 591-625, 1997.

WOODY, C. A.; NELSON, J.; RAMSTAD, K. Clove oil as an anaesthetic for adult sockeye salmon: field trials. **Journal of Fish Biology**, v. 60, p. 340-347, 2002.