

Eugenol como anestésico para juvenis de matrinxã (*Brycon cephalus*)

Eugenol as anaesthetic for matrinxã juveniles ("Brycon cephalus")

VIDAL, Luiz Vítor Oliveira ^{1*}; FURUYA, Wilson Massamitu ²; GRACIANO, Thêmis Sakaguti ³; SCHAMBER, Christiano Rodrigues ³; SILVA, Lilian Carolina Rosa da ⁴; SANTOS, Lilian Dena ⁴; SOUZA, Sandra Regina de ⁵

¹Médico Veterinário, Programa de Pós Graduação em Zootecnia, Departamento de Biologia, Universidade Estadual de Maringá, Paraná, Brasil.

²Professor Doutor, Departamento de Zootecnia, Universidade Estadual de Maringá, Paraná, Brasil.

³Mestrando(a), Programa de Pós Graduação em Zootecnia, Departamento de Biologia, Universidade Estadual de Maringá, Paraná, Brasil.

⁴Doutoranda, Programa de Pós Graduação em Zootecnia, Departamento de Biologia, Universidade Estadual de Maringá, Paraná, Brasil.

⁵Bióloga, Departamento de Biologia, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Paraná, Brasil.

*Endereço para correspondência e-mail: luizvitor.vidal@gmail.com

RESUMO

Este trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar a capacidade anestésica do eugenol e a influencia das concentrações na indução e recuperação anestésica em juvenis de matrinxã. Setenta e dois peixes ($3,31 \pm 0,57$ g) foram submetidos a oito concentrações de eugenol (50; 62,5; 75; 100; 125; 150; 175 e 200 mg/L) onde foram mantidos até o estágio de anestesia profunda, sendo logo após recuperados em aquário contendo água livre de eugenol. O eugenol se mostrou eficiente para a anestesia profunda de juvenis de matrinxã e as diferentes concentrações, influenciaram significativamente a indução dos peixes, fato que não ocorreu na recuperação. As concentrações de 50; 62,5; 75 e 100 mg/L se mostraram satisfatórias para a indução anestésica profunda, no que diz respeito aos tempos de indução e recuperação.

Palavras-chave: anestesia profunda, concentrações, manejo, peixes

INTRODUÇÃO

A aquíicultura, na qual está inserida a piscicultura, é o segmento da produção animal que mais cresce no cenário mundial atual (ONO e KUBITZA, 2003). Os peixes

SUMMARY

This work evaluated the anesthetic capacity of the eugenol for juveniles "matrinxã" (*Brycon cephalus*) and the concentration effect in the anesthesia induction and recovery. Seventy-two (3.31 ± 0.57 g) fish were submitted to eight different eugenol concentrations (50; 62.5; 75; 100; 125; 150; 175 e 200 mg/L) and submitted to deep anaesthesia; and afterwards the recovery in eugenol free water. It was concluded that eugenol is effective to induce deep anaesthesia in *Brycon cephalus* and the concentrations had strong influence in the induction time. The concentrations of 50; 62.5; 75 e 100 mg/L were good to deep anaesthesia in concern to induction and recovery times.

Key words: concentration, deep anaesthesia, fish, handling

são facilmente estressados durante o manejo e transporte, o simples contato dos animais com o ar atmosférico durante a biometria é suficiente para desencadear uma reação de estresse (McGEE & CICHRA, 2002).

A matrinxã é uma das espécies originárias da bacia Amazônica que vem despertando

grande interesse em pesquisadores, piscicultores, pesque-pague e a agroindústria de pescado de todo o Brasil. A crescente procura por essa espécie para criação em ambientes controlados se deve, principalmente, à sua fácil adaptação ao cativeiro, aceitação de alimentos tanto de origem vegetal quanto animal, seu rápido crescimento e elevado valor comercial (PIZANGO-PAIMA, 2001).

Substâncias anestésicas são frequentemente utilizadas para reduzir a hipermotilidade, que é uma fonte considerável de machucaduras durante procedimentos de manejo e/ou transporte (INOUE et al., 2003; VIDAL et al., 2006). A indução deve levar de 1 a 3 minutos e a recuperação não deve ultrapassar 5 minutos, quando se considera a anestesia necessária à biometria (ROUBACH & GOMES, 2001).

O "óleo-de-cravo" é um produto vegetal que tem sido utilizado para diversas aplicações na medicina popular (LAPEMM, 2005). É um composto fenólico resultado da destilação das folhas, flores (incluindo talos) das árvores de cravo da Índia (*Syzygium aromaticum*), sendo a substância ativa o eugenol, com concentração que varia de 70 a 95% da composição total do óleo essencial do cravo (MAZZAFERA, 2003). Os estudos sobre a utilização do eugenol como anestésico em aquicultura surgiram da necessidade de se encontrar novas substâncias eficazes, seguras e de baixo custo (ROUBACH et al., 2005).

Alguns estudos já demonstraram a eficácia do óleo-de-cravo como anestésico, para o matrinxã, *Brycon cephalus* (INOUE et al., 2003), tambaqui, *Colossoma macropomum* (ROUBACH et al., 2005), pintado, *Pseudoplatystoma corruscans* (VIDAL et al., 2006), jundiá, *Rhamdia quelen* (Cunha et al., 2006) e robalo-flecha, *Centropomus undecimalis* (SOUZA-JUNIOR e ALVES-JUNIOR, 2006), bem como a capacidade da substância de reduzir o estresse no transporte e manuseio (INOUE et al., 2005; CUNHA et

al., 2006). Porém, Davidson et al. (2005) constataram que a exposição prolongada de tilápias a doses insuficientes de eugenol aumentou os níveis plasmáticos de cortisol, em relação aos animais que não foram tratados com anestésico.

O objetivo com este trabalho foi avaliar a influência das concentrações do eugenol como anestésico na indução e recuperação de juvenis de matrinxã.

MATERIAL E MÉTODOS

Durante o período de março a abril de 2007, foram realizados três ensaios no Laboratório de Aquicultura da Universidade Estadual de Maringá.

Em todos os trabalhos, foram utilizados 72 juvenis de matrinxã ($3,31 \pm 0,57$ g). Para adaptação, os peixes foram mantidos em duas caixas de 250 L durante sete dias, com aeração constante, sendo fornecida ração extrusada (Supra Peixe Juvenil[®]) com 42% de proteína bruta, desintegrada em moedor de carne, selecionando-se os grânulos retidos em malha de um milímetro. Os peixes foram alimentados duas vezes ao dia, às 8:00 e 16:00 horas, à vontade, sete dias por semana. Diariamente, foi realizada sifonagem para retirada de fezes e ração não consumida, sendo renovada 10% da água do tanque. A temperatura durante a aclimatação variou de 23 a 25 °C.

Nos ensaios, foram utilizados aquários de vidro com volume útil de 20 litros, contendo quatro litros de água. A temperatura da água foi mantida em 25 ± 1 °C, enquanto o oxigênio dissolvido (OD) foi mantido entre $6 \pm 0,5$ mg/L. Em cada aquário, foi mantido um sistema de aeração constante por meio de pedra porosa acoplada a um soprador. A temperatura da água e o oxigênio dissolvido foram monitorados por meio de kit digital portátil (BERNAUER YSI-1055[®]).

Um grupo-controle foi utilizado, sendo os peixes mantidos em água livre do anestésico para monitoramento dos parâmetros comportamentais e possível mortalidade durante os procedimentos.

O Eugenol[®] (Biodinâmica), devido à sua natureza oleosa, foi diluído em álcool etílico (92,8°), o que resultou em solução estoque na proporção de 100mg/mL.

Para se determinar a influência da concentração na indução e recuperação dos animais, foram avaliados oito tratamentos

(50; 62,5; 75; 100; 125; 150; 175 e 200 mg/L de eugenol). Para cada tratamento, foram utilizados nove juvenis (n=9), coletados aleatoriamente e submetidos, um de cada vez, ao banho anestésico, totalizando 72 peixes. O parâmetro observado para a indução foi a ausência de movimentos dos peixes no fundo do aquário. Em seguida, foi estabelecido o estágio anestésico atingido, seguindo-se a metodologia proposta por Ross & Ross (1999), como pode-se observar na Tabela

Tabela 1. Estágios de anestesia em peixes

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

Modificada de ROSS & ROSS (1999)

Após indução, todos os peixes foram pesados (balança digital portátil, 0,01g) e medidos individualmente (paquímetro Mitutoyo, 0,01 cm), para simular um procedimento de rotina no campo. A recuperação anestésica foi realizada individualmente, em aquário contendo água livre do eugenol (25 ± 1 °C e $6 \pm 0,5$ mg/L), sendo o retorno total do equilíbrio utilizado como parâmetro comportamental indicativo

da recuperação, sendo estabelecido o estágio configurado por Hikasa et al. (1986).

Na Tabela 2 encontram-se os estágios de recuperação em peixes e os parâmetros comportamentais correspondentes. O tempo necessário para a observação dos padrões comportamentais avaliados, foi monitorado por meio de cronômetro digital.

Tabela 2. Estágios de recuperação anestésica

Estágio	Resposta comportamental
I	Reaparecimento dos movimentos operculares
II	Retorno parcial do equilíbrio e da capacidade de nado
III	Recuperação total do equilíbrio
IV	Nado e reação para estímulos externos ainda vacilantes
V	Total recuperação do equilíbrio e capacidade normal de nado

Modificada de Hikasa et al. (1986)

Para a análise estatística do efeito da concentração do eugenol sobre os peixes, a média dos valores encontrados foi comparada, por meio de análise de variância (ANOVA critério único), com a indicação de valores significativos ao nível de 5%. Para identificação das diferenças entre as concentrações, foi utilizado o teste de Student-Newman-Keuls (SNK), comparando-se as médias de cada concentração de anestésico utilizadas. A correlação entre as concentrações e o efeito do anestésico foi determinada por meio do teste de Spearman com a indicação de valores significativos ao nível de 1%. A estimativa de resposta dos animais ao anestésico foi obtida por meio de regressão não-linear. Todas as análises foram realizadas utilizando-se o programa estatístico SPSS 13.0 (SPSS, 2004).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante os ensaios, em todos os tratamentos, os peixes apresentaram reação de hiperatividade ao primeiro contato com o anestésico, evidenciada pela rápida movimentação no aquário, que diminuiu à medida que o efeito do anestésico se instalava. Em todas as concentrações, os peixes atingiram o estágio anestésico IV (anestesia profunda).

A hiperatividade também foi observada por Grush et al. (2004) e Vidal et al. (2006).

Mylonas et al. (2005) atribuíram essa reação ao próprio eugenol, uma vez que exemplares de dourada (*Sparus aurata*) e robalo europeu (*Dicentrarchus labrax*) não apresentaram reações adversas à quantidade de álcool utilizado na diluição do anestésico. De acordo com Collins (1978), a euforia é o primeiro comportamento observado em um animal submetido à anestesia geral. Os tempos de indução e recuperação dos peixes encontram-se na Tabela 3. Os tratamentos com 125, 150, 175 e 200 mg/L apresentaram o menor tempo de indução ($P < 0,01$); o tratamento com 100 mg/L apresentou um tempo superior aos anteriores, porém menor que os demais; o tratamento com 75 mg/L apresentou um tempo de indução inferior em relação aos tratamentos com 50 e 62,5 mg/L, esses tratamentos apresentaram os tempos de indução semelhantes entre si porém mais altos que os demais. O menor nível de eugenol (50 mg/L) proporcionou o menor tempo de recuperação ($P < 0,01$) para os juvenis de matrinxã, sendo semelhante aos tratamentos com 75 a 200 mg/L. O maior tempo de recuperação foi verificado para o tratamento com 62,5 mg/L, similarmente aos valores apresentados pelos tratamentos com 75 a 200 mg/L.

Tabela 3. Tempo de indução e recuperação dos juvenis de matrinxã expostos a diferentes concentrações de eugenol.

Concentração (mg/L)	Indução (segundos)	Recuperação (segundos)
50,0	138,8 ± 22,1 ^d	186,1 ± 61,6 ^a
62,5	138,9 ± 15,9 ^d	305,9 ± 79,5 ^b
75,0	103,0 ± 11,7 ^c	292,1 ± 63,3 ^{ab}
100,0	63,0 ± 10,2 ^b	279,9 ± 119,9 ^{ab}
125,0	37,2 ± 6,7 ^a	235,8 ± 81,4 ^{ab}
150,0	29,9 ± 3,6 ^a	243,7 ± 73,6 ^{ab}
175,0	24,6 ± 3,1 ^a	218,1 ± 71,6 ^{ab}
200,0	23,8 ± 3,3 ^a	281,6 ± 78,7 ^{ab}

Médias seguidas das mesmas letras, na mesma coluna, não diferem entre si (P>0,05) utilizando o teste SNK

Diversos autores constataram redução no tempo necessário para a anestesia de peixes, à medida que se elevou a concentração (KEENE et al., 1998; WATERSTRAT 1999; INOUE et al., 2003 e VIDAL et al., 2006), ao mesmo tempo em que observaram menor influência das concentrações na recuperação dos animais.

A correlação encontrada entre as diferentes concentrações e a indução anestésica foi -

0,95. O modelo matemático encontrado para prever o efeito do anestésico nos animais obedece a equação $I=54290,513x[C]^{-1,483}$, em que I é o tempo necessário para a indução e [C] a concentração utilizada. O R² da equação foi 0,94 e o F= 1032,562, em concentrações que foram de 50 a 200 mg/L. A Figura 1 apresentam a curva de concentração-efeito para juvenis de matrinxã.

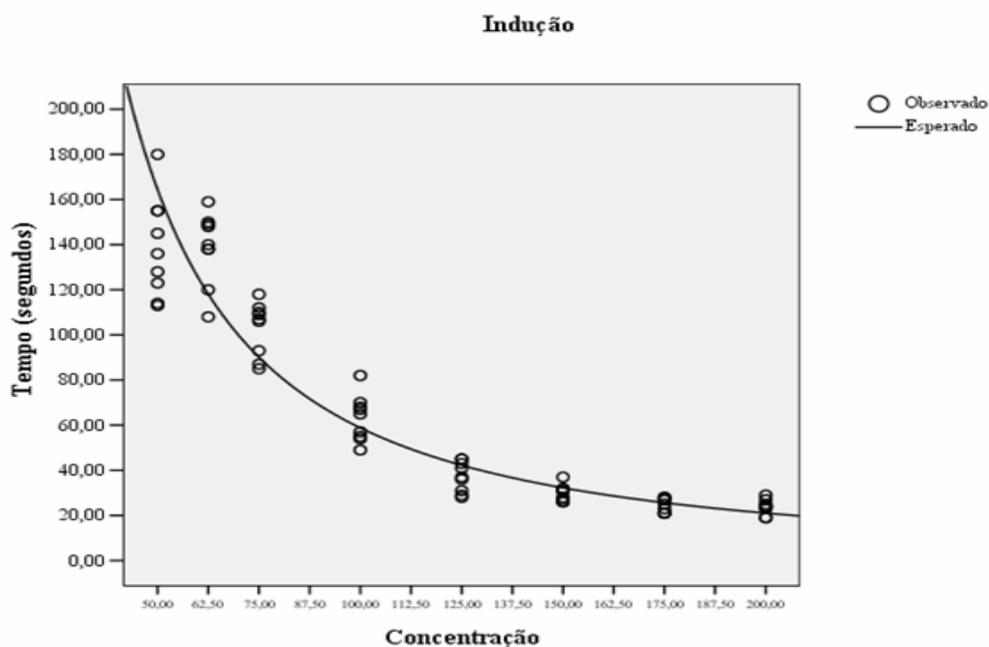


Figura 1. Tempo de indução de juvenis de matrinxã submetidos ao eugenol

A curva de regressão potência obtida para a indução anestésica concorda com o mesmo modelo matemático encontrado por Inoue et al. (2003). Em ambos os trabalhos, foi observada queda elevada nas primeiras concentrações, com tendência a estabilidade nas últimas.

Os tempos de indução obtidos nas quatro primeiras concentrações são satisfatórios para que os peixes alcancem o estágio de anestesia profunda, assim como todos os tempos de recuperação encontrados no trabalho (ROUBACH & GOMES, 2001).

As concentrações mais eficazes para a anestesia profunda do atual trabalho encontram-se dentro do intervalo proposto para algumas espécies como a truta arco-íris *Oncorhynchus mykiss*, 40-120 mg/L, e carpa comum *Cyprinus carpio*, 40-100 mg/L (COYLE et al., 2005). Esses valores são maiores que aqueles encontrados para outras espécies nativas do Brasil, como juvenis de pintado 50 mg/L (VIDAL et al., 2006) e robalo flecha 40 mg/L (SOUZA JUNIOR & ALVES JUNIOR, 2006).

O aumento das concentrações de eugenol influenciou apenas o tempo de indução anestésica dos juvenis de matrinxã. Assim como outros autores observaram, neste trabalho também ficou constatado que a recuperação anestésica é pouco ou não influenciada pelas diferentes concentrações. Os tempos de indução observados em algumas concentrações (50; 62,5; 75 e 100 mg/L) são satisfatórios para a indução anestésica da espécie, satisfazendo o que é preconizado como uma boa concentração para anestesia profunda.

A utilização do eugenol facilitou o manejo dos peixes, assim como constatado por Vidal et al. (2006). De acordo com Inoue et al. (2003), as substâncias anestésicas são utilizadas para reduzir a hipermotilidade provocada pelo manuseio dos animais, dessa forma, são reduzidos os riscos de acidentes para os peixes e àqueles que conduzem o trabalho.

As diferentes concentrações influenciaram significativamente a indução e recuperação dos peixes. Porém, os tempos encontrados para recuperação apresentaram grande desvio, fato também relatado por outros autores (INOUE et al., 2003 e VIDAL et al., 2006). Dessa forma, de acordo com o preconizado por Roubach & Gomes (2001), considerando o tempo ideal para a anestesia profunda de peixes, as concentrações de 50 a 100 mg/L são suficientes para que a espécie atinja esse estágio anestésico. No entanto, para se aumentar a segurança do procedimento indica-se a concentração de 50 mg/L.

CONCLUSÕES

O eugenol se mostrou eficiente para a anestesia profunda de juvenis de matrinxã nas concentrações testadas. A concentração de 50 mg/L é suficiente para a indução anestésica dos peixes.

REFERÊNCIAS

- COLLINS, V.J. **Princípios de Anestesiologia**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1978. 119p.
- COYLE, S.D.; DURBOROW, R.M.; TIDWELL, J.H.. **Anesthetics in aquaculture**. Disponível em: <www.aces.edu/dept/fisheries/aquaculture/documents/5864154-3900fs.pdf>. Acesso em: 28 out. 2005.
- CUNHA M.A.; COPATTI, C.E.; GARCIA L.O.; FONSECA, M.B.; FERREIRA, F.W.; MALDANER, G.; MOREL, A.F.; LORO, V.L.; BALDISSEROTTO, B. Níveis de cortisol em jundiás (*Rhamdia Quelen*) expostos ao óleo de cravo (*Eugenol*) e

extrato de *Condalia Buxifolia*. In: QUACIENCIA, 2006. Bento Gonçalves. **Anais...** Bento Gonçalves: Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia Aquática, 2006, CD-ROM.

DAVIDSON, G.W.; DAVIE, P.S.; YOUNG, G.; FOWLER, R.T. Physiological responses of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* to crowding and anesthesia with AQUI-S. **Journal of the World Aquaculture Society**, Baton Rouge, v.31, p.105–114, 2005.

GRUSH, J.; NOAKES, D.L.G.; MOCCIA, R.D. The efficacy of clove oil as an anesthetic for the Zebrafish, *Danio rerio* (Hamilton). **Zebrafish**, New Rochele, v.1 , n.1, 2004.

HIKASA, Y. TAKASE, K.; OGASAWARA, T.; OGASAWARA, S. Anesthesia and recovery with tricaina methene-sulfonate, eugenol and thiopental sodium in the carp, *Cyprinus carpio*. **Japanese Journal of Veterinary Science**, Tokyo, v.48, p.341–351, 1986.

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

INOUE, L.A.K.A.; AFONSO, L.O.B.; IWAMA, G.K. Efeito do óleo de cravo na resposta de estresse do matrinxã (*Brycon cephalus*) submetido ao transporte. **Acta Amazônica**, Manaus, v.35, n.2, p.289–295, 2005.

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

LAPEMM. **Histoquímica do Cravo**.

Disponível em:
<<http://www.lapemm.ufba.br/cravo.htm>>
Acesso em: 28 de outubro de 2005.

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

McGEE, M.; CICHRA, C. **Fish handling and transport**. Disponível em:
<<http://edis.ifas.ufl.edu/pdf/FA/FA01900.PDF>>. Acesso em: 28 out.2002.

MYLONAS, C.C.; CARDINALETTI, G.; SIGELAKI, I.; POLZONETTI-MAGNI, A. Comparative efficacy of clove oil and 2-phenoxyethanol as anesthetics in the aquaculture of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and gilthead sea bream (*Sparus aurata*) at different temperatures. **Aquaculture**, Amsterdam, v.246, p.467–481, 2005.

ONO, A.E., KUBITZA, F. **Cultivo da peixes em tanques-rede**. 3. ed, Jundiaí: Agua & Imagem, 2003. 126p.

PIZANGO-PAIMA, E.G.; PEREIRA-FILHO, M.; OLIVEIRA-PEREIRA, M.I. Composição corporal e alimentar do matrinxã, *Brycon cephalus*, na Amazônia central. **Acta Amazônica**, Manaus, v.31, n.3, p.509–520, 2001.

ROSS L.G.; ROSS B. **Anaesthetic and sedative techniques for aquatic animals**. 2.ed. Oxford: Blackwell Science, 1999.

ROUBACH, R.; GOMES, L.C. O uso de anestésicos durante o manejo de peixes. **Panorama da Aquicultura**, Rio de Janeiro, v.66, n.2, 2001.

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

SOUZA JUNIOR, V.B.; ALVES JUNIOR, T.T. A eficácia do óleo de cravo (eugenol) como anestésico no manejo de juvenis de robalo-flecha *Centropomus undecimalis*, mantidos em cativeiro. In: AQUACIENCIA 2006, 2006. Bento Gonçalves. **Anais...** Bento Gonçalves: Sociedade Brasileira de Aqüicultura e Biologia Aquática, 2006. CD-ROM.

SPSS Incorporation. **SPSS for Windows Statistical package for the social sciences**: release 13.0. Chicago, Illinois, 2004.

VIDAL, L.V.O; ALBINATI, R.C.B.; ALBINATI, A.C.L.; MACÊDO, G.R. de. Utilização do Eugenol como Anestésico para o Manejo de Juvenis de Pintado (*Pseudoplatystoma corruscans*). **Acta Scientiarum Biological Sciences**, Maringá, v.28, n.3, 2006.

WATERSTRAT, P.R. Induction and recovery from anesthesia in channel catfish *Ictalurus punctatus* fingerlings exposed to clove oil. **Journal of the World Aquaculture Society**, Baton Rouge, v.30, n.2, p.250 – 255. 1999.

Data de recebimento: 12/07/2007

Data de aprovação: 16/09/2007