

Eugenol e benzocaína como anestésicos para juvenis de *Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758 (carpa comum)

Fábio Bittencourt¹, Bruno E. de Souza², Daclei H. Neu³,
Ronan R. Rorato¹, Wilson R. Boscolo¹ & Aldi Feiden¹

¹ Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Rua da Faculdade, 645, Jardim Santa Maria, CEP 85903-000, Toledo-PR, Brasil. E-mail: fabio_gemaq@yahoo.com.br; rrorato@gmail.com; wrboscolo@bol.com.br; aldifeiden@gmail.com

² Instituto Federal do Paraná, Av. Araucária, 780, Vila A, CEP 85.860-000, Foz do Iguaçu-PR, Brasil. E-mail: bruno.souza@ifpr.edu.br

³ Universidade Estadual de Maringá, Avenida Colombo, 5790, Jardim Universitário, 87.020-900, Maringá-PR, Brasil. E-mail: daclei_pesca@hotmail.com

RESUMO

Anestésicos como benzocaína e eugenol são eficientemente utilizados em peixes para reduzir o estresse, tanto no manejo dos animais como para transporte e reprodução. O objetivo deste trabalho foi avaliar os tempos de indução e recuperação de juvenis de *Cyprinus carpio* (carpa comum) expostos a dois anestésicos, eugenol (12,5; 25; 37,5; 50; 62,5; 75 e 87,5 mg L⁻¹) e benzocaína (12,5; 25; 37,5; 50; 62,5; 75; 87,5; 100 e 112,5 mg L⁻¹). Foram utilizados 136 juvenis com peso médio de 1,92 ± 0,59 g e comprimento total médio de 5,25 ± 0,52 cm. A benzocaína mostrou ser mais eficiente do que o eugenol em relação ao tempo, tanto para indução ao coma quanto para a recuperação à fuga e também no que diz respeito à sobrevivência. As doses de benzocaína com melhores resultados foram de 87,5 e 100 mg L⁻¹. O eugenol proporcionou demora na indução e na recuperação dos animais além de ter apresentado mortalidades quando as doses anestésicas foram elevadas.

Palavras-chave: anestesia, espécie exótica, manejo, piscicultura

Eugenol and benzocaine as anesthetics for juvenile common carp (Cyprinus carpio)

ABSTRACT

Anesthetics such as benzocaine and eugenol are efficiently used in fish to reduce stress both in the management of animals as for transport and reproduction. The aim of this study was to evaluate the induction times and recovery of juvenile common carp (*Cyprinus carpio*) exposed to both anesthetics, benzocaine (12,5; 25; 37,5; 50; 62,5; 75; 87,5; 100 e 112,5 mg L⁻¹) and eugenol (12,5; 25; 37,5; 50; 62,5; 75 e 87,5 mg L⁻¹). Hundred and thirty six juveniles were used with a mean weight of 1.92 ± 0.59 g and mean total length of 5.25 ± 0.52 cm. The benzocaine proved more efficient than eugenol over time, thus to induce coma as to recover the scape and also with regard to survival. The doses of benzocaine with best results were 87.5 and 100 mg L⁻¹. Eugenol delay resulted in the induction and recovery of the animals, and also presented anesthetic mortality when doses were increased.

Key words: anesthetic, exotic species, fish culture, management

INTRODUÇÃO

Nos últimos anos a aquicultura teve um aumento considerável na produção de organismos aquáticos dulcícolas. A carpa comum, *Cyprinus carpio*, compreende o grupo de peixes mais cultivado no mundo e o segundo o mais cultivado no Brasil, atrás somente das tilápias (Boscardin, 2008). Quando se trata apenas da região sul do Brasil, esta espécie domina o campo da produção piscícola com aproximadamente 35 mil t ano⁻¹. Contudo, a produção final pode ser afetada caso algumas precauções não sejam tomadas durante a fase de transição de alevinos para juvenis.

Nas fases iniciais de criação, os organismos são sensíveis ao manejo e às perturbações ambientais, fatores esses passíveis de ocasionar o estresse e levar a situações de imunodepressão dos animais.

O uso de anestésicos tem demonstrado eficácia para contornar eventuais transtornos nas práticas de manejo aplicadas no cotidiano da criação de peixes. Essas substâncias podem ser definidas como um estado causado por um agente externo resultando na perda da sensação, através da depressão do sistema nervoso.

A benzocaína é o fármaco mais utilizado no Brasil (Roubach & Gomes, 2001) por ter baixo custo e boa margem de segurança para os peixes (Gomes et al., 2001). Com o uso deste componente as espécies não sofrem problemas de crescimento nem de reprodução, além de ser um produto ecologicamente correto (Okamoto et al., 2009).

O eugenol é o principal componente do óleo de cravo (Barbosa et al., 2007) e é eliminado da corrente sanguínea em menos de dois dias, após sua utilização (Woody et al., 2002). Todavia, doses elevadas e tempo de exposição exacerbado podem ser prejudiciais para os animais acarretando em morte dos indivíduos.

Segundo Roubach & Gomes (2001) para se atingir o tempo de indução anestésica o processo deve ocorrer entre um a três minutos e para a recuperação o tempo ideal não deve ultrapassar cinco minutos.

Roubach et al. (2005) relatam que no Brasil e em outros países, o uso dessas substâncias é motivo de preocupação devido à inexistência de leis que regulem o uso dessas drogas. Entretanto, a resolução 714 de 2002 do Conselho Federal de Medicina Veterinária autoriza a eutanásia em peixes com o uso de barbitúricos, anestésicos inaláveis, CO₂, triclaína metano sulfonato (TMS, MS222), hidrocloreto de benzocaína e 2-fenoxietanol.

Como o manuseio de alevinos e juvenis de peixes é imprescindível em uma produção aquícola, seja para biometrias ou transporte, o objetivo deste trabalho foi avaliar o tempo de indução e a recuperação de juvenis de *Cyprinus carpio* (carpa comum) submetidos à insensibilização por dois tipos de anestésico, eugenol e benzocaína.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado no Laboratório de Aquicultura do Grupo de Estudos de Manejo na Aquicultura - GEMAq da Universidade Estadual do Oeste do Paraná – Unioeste, *Campus*

de Toledo, Paraná, Brasil. Foram utilizados 136 juvenis de *C. carpio* (carpa comum) com peso médio de 1,92 ± 0,59 g e comprimento total médio de 5,25 ± 0,52 cm, adquiridos em uma piscicultura comercial localizada na região oeste do estado do Paraná. Os animais foram aclimatados durante sete dias em uma caixa de 1000 L com aeração e renovação de água constante. A alimentação foi realizada até a saciedade aparente, quatro vezes ao dia, com ração comercial processada na forma farelada contendo 32% de proteína bruta. Diariamente foram realizadas duas sifonagens (manhã e tarde) para retirada de fezes e ração não consumida.

O experimento foi conduzido em dois aquários (um contendo o anestésico para indução e outro sem o anestésico para recuperação) de vidro com volume útil de 30 L mas contendo apenas 10 L de água, retirada do próprio tanque de aclimatação, com temperatura de 25 °C. Foram aferidos a temperatura, o oxigênio dissolvido, o pH e a condutividade elétrica. As soluções de eugenol e de benzocaína foram diluídas em álcool etílico (98,8%) resultando em duas soluções estoque na proporção de 100 mg mL⁻¹ (1:10).

Foram testadas as concentrações de 12,5; 25; 37,5; 50; 62,5; 75; 87,5; 100 e 112,5 mg L⁻¹ para benzocaína e 12,5; 25; 37,5; 50; 62,5; 75 e 87,5 mg L⁻¹ para o eugenol. Os testes com cada anestésico foram realizados individualmente e em dias separados, da menor concentração para a maior. Foram utilizados 8 peixes (n = 8) expostos individualmente para cada concentração. O tratamento controle recebeu o mesmo manejo que os demais, porém sem a solução anestésica no aquário.

O tempo necessário para o aparecimento dos padrões comportamentais avaliados foi monitorado por meio de cronômetro digital. A água dos aquários foi totalmente trocada a cada teste.

Os estágios anestésicos foram verificados de acordo com a Tabela 1.

Tabela 1. Características comportamentais dos peixes, de acordo com os diferentes estágios de anestesia

Estágio	Característica de comportamento
1	Movimento opercular visivelmente lento ou errático
2	Perda parcial de equilíbrio e dificuldade de manter posição normal de nado, quando parado
3	Perda total de equilíbrio e incapacidade de recuperar a posição vertical de nado ("barriga para cima")
4	Ausência de reação a qualquer estímulo
Recuperado	Recuperação da posição normal de nado e da capacidade de nadar

Fonte: Woody et al, 2002.

A ausência de reação a qualquer estímulo foi verificada pelo toque na lateral dos peixes, com um bastão de vidro. A recuperação anestésica foi realizada individualmente, em aquário contendo 20 L de água sem anestésico com aeração constante para avaliação do tempo de recuperação dos peixes. Após o restabelecimento dos animais no aquário de recuperação, os organismos foram acondicionados em aquários de 30 L onde foram mantidos com aeração constante e alimentação durante 96 h, para monitoramento da mortalidade.

Os dados foram avaliados através de análises de variância (ANOVA – Unifatorial) com posterior comparação múltipla de médias pelo teste de Tukey em nível de 5% de significância, no programa estatístico *Statistic 7.0*.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os parâmetros físicos e químicos da água, mensurados durante o experimento, pH $7,82 \pm 0,82$, condutividade elétrica $0,19 \pm 0,04 \mu\text{S cm}^{-1}$, oxigênio dissolvido $4,49 \pm 2,08 \text{ mg L}^{-1}$ e temperatura da água de $25,5 \pm 0,5 \text{ }^\circ\text{C}$, se mantiveram dentro dos limites confortáveis para a espécie (Golombieski et al., 2005).

Em todas as concentrações de benzocaína, exceto para as dosagens inferiores a 50 mg L^{-1} , os peixes atingiram o estado de anestesia profunda. A média no tempo da indução e recuperação anestésica, está apresentada na Tabela 2. Para a indução tempos maiores foram observados em doses menores e, para a recuperação, o oposto. Houve diferenças significativas ($P < 0,05$) para as várias dosagens, em ambos os estágios. Levando em consideração os estudos de Roubach & Gomes (2001), apenas os valores de 100 e $112,5 \text{ mg L}^{-1}$ de benzocaína estão adequados à sedação dos peixes e, para a recuperação, apenas as doses de 50 e $62,5 \text{ mg L}^{-1}$. Contudo, resultados apresentados por Antunes et al. (2008) demonstraram que 100, 140, 180 e 220 mg L^{-1} de benzocaína para carpas se mostraram seguros e eficientes.

Tabela 2. Tempo de indução e recuperação dos juvenis de carpa comum, expostos a diferentes concentrações de benzocaína

Concentração (mg L^{-1})	Indução	Recuperação
	(segundos)	
50,0	$373,9 \pm 55,6a$	$237,0 \pm 52,0a$
62,5	$206,7 \pm 41,9c$	$245,0 \pm 74,3ab$
75,0	$267,4 \pm 37,2b$	$352,5 \pm 77,1b$
87,5	$196,0 \pm 43,0cd$	$332,1 \pm 68,26ab$
100,0	$144,5 \pm 24,9de$	$337,0 \pm 77,6ab$
112,5	$136,1 \pm 28,0e$	$339,7 \pm 86,44ab$

*Médias com letras distintas na mesma coluna indicam diferença estatística ($P < 0,05$)

Os dados apresentados no atual estudo corroboram com os observados por Gimbo et al. (2008) em testes com *Astyanax altiparanae* (lambari), Anziliero et al. (2004) em experimentos com *Rhamdia quelen* (jundiá) e Okamoto et al. (2009) que avaliaram o tempo de indução anestésica do *Trachinotus marginatus* (pampo) à benzocaína, em que a latência dos animais submetidos à maior dosagem, ocorreu por volta de dois minutos embora a dosagem tenha sido superior à testada neste trabalho (150 mg); enfim, a recuperação ocorreu de maneira similar, sendo mais rápida em concentrações menores.

Por outro lado, o presente trabalho encontrou resultados opostos aos de Bastos-Ramos et al. (1998) que verificaram a eficiência de 100 mg L^{-1} de benzocaína para anestesia do peixe antártico. Os animais demoraram cerca de 6 a 8 minutos para entrar em coma, estado que perdurou durante 20 minutos. Inoue et al. (2002) observaram que 60 mg L^{-1} deste produto foram suficientes para juvenis de *Brycon amazonicus* (matrinxã) entrarem em letargia em aproximadamente um minuto. Porém, as carpas são peixes que apresentam características mais tranquilas quando comparados com a matrinxã; talvez, por isto, os tempos tenham sido mais elevados no estudo atual.

A eficácia dos anestésicos varia de espécie para espécie e cada uma tem seu tempo ótimo, tanto para a latência quanto para o recobrimento da natação. Segundo Gimbo et al. (2008) as respostas fisiológicas envolvidas na ação desse fármaco ainda

não foram completamente elucidadas e tampouco se conhecem os efeitos do tempo de exposição dos animais. Todavia, não foi observada, nesse estudo, mortalidade dos animais após 96 h, conforme o protocolo proposto por Vidal et al. (2006). Apesar disto, o estresse é uma expressão da combinação entre genética, fatores ambientais, histórico do cultivo e estado nutricional dos animais (Iwama et al, 1999) que, quando desencadeado, pode submeter os peixes a condições adversas, dentre elas o óbito.

A benzocaína fornece segurança para a anestesia de peixes, comprovada pela não ocorrência de mortalidades em qualquer dose utilizada. Embora os tempos de recuperação sejam elevados este produto se enquadra como um anestésico funcional atendendo aos requisitos propostos por Roubach & Gomes (2001). Ainda assim, os processos metodológicos devem ser revistos para que ocorra uma padronização na utilização de anestésicos em peixes, diminuindo esses tempos e permanecendo uma margem de segurança confiável.

Na literatura podem ser encontrados vários trabalhos com diferentes tipos de anestésicos e espécies de peixes, dentre eles alguns alternativos que ainda não possuem estudo suficiente para que sejam considerados eficientes e seguros em peixes; entretanto, cada um destaca a eficácia em determinada dosagem. Rodríguez-Gutiérrez & Esquivel-Herrera (1995) avaliaram o uso repetido de xilocaína no manejo para reprodução de carpas, Façanha & Gomes (2005) e Gonçalves et al. (2008) utilizaram o mentol para *Colossoma macropomum* (tambaqui) e *Piaractus mesopotamicus* (pacu), respectivamente. Trabalhos com hidrocloro de lidocaína (Park et al., 2009), metacaína (Zahl et al., 2009) e óleo de cravo (Boyer et al., 2009) também foram realizados.

Segundo Roubach et al. (2005) o eugenol é o principal componente do óleo de cravo e é tratado como produto alternativo e promissor para o manejo de peixes; entretanto, Barbosa et al. (2007) relatam que o próprio anestésico pode ser prejudicial ao peixe. No presente estudo as doses mais elevadas ($87,5$ e $75,0 \text{ mg L}^{-1}$) apresentaram mortalidade de 25 e 12,5%, respectivamente. Esses resultados que divergem daqueles apresentados por Barbosa et al. (2007) que encontraram sobrevivência total dos animais durante o período experimental, em todas as dosagens correspondentes.

Para as carpas o eugenol mostrou ser um indutor eficiente quando as doses utilizadas foram inferiores a 75 mg L^{-1} , embora os resultados de tempo sejam mais elevados que os de benzocaína. Entretanto, os dados não indicam que quanto menor é a fração utilizada, menor também é o tempo de recuperação (Tabela 3).

Estatisticamente, o tempo de recuperação foi independente das concentrações anestésicas não havendo diferença significativa ($P > 0,05$) e as doses mais elevadas acarretaram

Tabela 3. Tempo de indução e recuperação dos juvenis de carpa comum, expostos a diferentes concentrações de eugenol

Concentração (mg L^{-1})	Indução	Recuperação
	(segundos)	
37,5	$422,9 \pm 82,6a$	$540,3 \pm 104,5a$
50,0	$354,0 \pm 91,0a$	$499,4 \pm 49,6a$
62,5	$354,9 \pm 77,2a$	$620,0 \pm 159,0a$
75,0	$202,9 \pm 52,2b$	$719,4 \pm 261,6a$
87,5	$226,5 \pm 37,3b$	$610,8 \pm 156,1a$

*Médias com letras distintas na mesma coluna indicam diferença estatística ($P < 0,05$)

morte de alguns indivíduos. As concentrações mais baixas podem resolver o caso da indução anestésica dessa espécie, sem maiores problemas, apenas decorrendo em maior tempo.

As médias ficaram acima das apresentadas por Inoue et al. (2003) que encontraram tempo de 77 segundos em *B. amazonicus* (matrinxã) quando a dose de eugenol administrada foi de 40 mg L⁻¹. Vidal et al. (2008), Vidal et al. (2007a), Vidal et al. (2007b) e Vidal et al. (2006) verificaram, utilizando o mesmo fármaco, valores inferiores aos do atual trabalho, em pesquisas com *Oreochromis niloticus* (tilápia), juvenis de *B. amazonicus* (matrinxã), *Leporinus macrocephalus* (piaçu) e *Pseudoplatystoma coruscans* (pintado), respectivamente. Woody et al. (2002) relataram os tempos para anestesia no *Oncorhynchus nerka* (salmão) e, segundo os autores, a partir de 110 mg L⁻¹, os peixes não se recuperam antes de 15 minutos, situação que não foi testada no presente estudo, visto que, quando dispostas concentrações de 75 mg L⁻¹, iniciaram as mortalidades, que não são desejáveis e por isso se descartou a utilização de dosagens superiores; entretanto, para sua recuperação, as doses utilizadas proporcionaram tempo acima de 8 minutos.

Por aspersão de eugenol nas brânquias do *Arapaima gigas* (pirarucu) Honczaryk & Inoue (2009) descrevem que doses de 30 e 60 mg L⁻¹ são eficientes para o manejo dessa espécie.

Inoue et al. (2005) relatam que o óleo de cravo reduz algumas das principais respostas ao estresse em *B. amazonicus* (matrinxã) com doses de até 10 mg L⁻¹. Barbosa et al. (2007) relatam que o eugenol não reduz totalmente nem acresce o estresse de *B. amazonicus* (matrinxãs) quando expostas em concentrações de até 60 mg L⁻¹.

Cooke et al. (2004) obtiveram respostas em que o óleo de cravo, variando de 5 a 9 mg L⁻¹, tem efeito sedativo resultando em reação cardíaca mantendo, porém, o equilíbrio, sendo uma boa maneira para redução de estresse durante o transporte de *Micropterus salmoides* (largemouth bass).

O eugenol proporciona diversos fatores positivos para a latência dos animais, comprovado pelas diferentes dosagens utilizadas para as diversas espécies. Talvez sua utilização seja restringida a algumas espécies que possuem comportamento mais agressivo e em que o metabolismo acelerado contribui para a eficiência do fármaco, inclusive em respostas de estresse mas, para juvenis de carpas, este produto acarreta em tempo elevado que pode estar ligado à fisiologia da espécie, sobretudo quando comparado com a benzocaína.

A partir de todas essas informações é clara a evidência de que o efeito anestésico não é o mesmo para as diferentes espécies e para os variados tamanhos dos peixes. O senso comum do uso dessas substâncias indica que para transporte, reprodução, cirurgias e manejo dos peixes, em geral, qualquer produto tem eficiência, embora alguns façam com que o procedimento ocorra mais rapidamente. Contudo, testes avaliando a fisiologia dos peixes são necessários para se determinar o melhor fármaco anestésico.

CONCLUSÃO

A benzocaína mostrou ser mais eficiente do que o eugenol, no que diz respeito aos tempos de indução, recuperação e sobrevivência dos peixes. As doses de 87,5 e 100 mg L⁻¹ de

benzocaína fazem com que os juvenis de carpas apresentem sedação em menor tempo. Embora o eugenol seja tóxico em altas concentrações, recomendam-se 37,5 mg L⁻¹ na anestesia de carpas.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Grupo de Estudos de Manejo na Aquicultura – GEMAQ, à Universidade Estadual do Oeste do Paraná – Campus Toledo, pelo auxílio nos trabalhos e disponibilização das estruturas para o desenvolvimento da pesquisa.

LITERATURA CITADA

- Antunes, M.I.P.P.; Spurio, R.S.; Godoi, D.A.; Grumadas, C.E.S.; Rocha, M.A. Cloridrato de benzocaína na anestesia de carpas (*Cyprinus carpio*). Semina: Ciências Agrárias, v. 29, n. 1, p.151-156, 2008. <<http://www.uel.br/revistas/uel/index.php/semagrar/article/view/2866/2429>>. 18 Out. 2012.
- Anziliero, D.; Kreutz, C.L.; Barcellos, G.J.L. Avaliação de quatro diferentes anestésicos para sua utilização no manejo de jundiás (*Rhamdia quelen*). 2008. In: Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária, 35., 2008, Gramado-RS. Anais... Gramado – RS: SBMV; SOVERGS, 2008. CD Rom. <<http://www.sovergs.com.br/conbravet2008/anais/cd/resumos/R0813-1.pdf>>. 18 Out. 2012.
- Barbosa, L.G.; Moraes, G.; Inoue, L.A.K. Respostas metabólicas do matrinxã submetidos a banho anestésico de eugenol. Acta Scientiarum. Biological Science, v. 29, n. 3, p.255-260, 2007. <<http://dx.doi.org/10.4025/actasciobiolsci.v29i3.474>>
- Bastos-Ramos, W.P.; Gonçalves, N.M.F.M.; Bacila, M. Anesthesia and analgesia in antarctic fish: na experimental approach. Archivo Veterinaria Scientiae, v. 3, n. 1, p. 95-100, 1998. <<http://ojs.c3sl.ufpr.br/ojs2/index.php/veterinary/article/view/3745/2991>>. 18 Oct. 2012.
- Boscardin, N. R. A produção aquícola brasileira. In: Ostrensky, A.; Borghetti, J.R.; Soto, D. (Eds.). Aquicultura no Brasil: O desafio é crescer. Brasília: Antonio Ostrensky, José Roberto Borghetti & Doris Soto, 2008. p.27-72. <<http://projetoopacu.com.br/public/paginas/202-livro-aquiculturano-brasil-o-desafio-e-crescer.pdf>>. 18 Out. 2012.
- Boyer, S.E.; White, J.S.; Stier, A.C.; Osenberg, C.W. Effects of the fish, clove oil (eugenol), on coral health and growth. Journal Experimental Marine Biology and Ecology, v. 369, n.1, p.53-57, 2009. <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jembe.2008.10.020>>
- Cooke, S.J.; Susky, C.D.; Ostrand, K.G.; Tufts, B.L.; Wahl, D.H. Behavioral and physiological assessment of low concentrations of clove oil anaesthetic for handling and transporting largemouth bass (*Micropterus salmoides*). Aquaculture, v. 239, n.1-4, p.509-529, 2004. <<http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2004.06.028>>
- Façonha, M.P.; Gomes, L.C. A eficácia do mentol como anestésico para tambaqui (*Colossoma macropomum*, Characiformes: Characidae). Acta Amazônica, v.35, n.1, p.71-75, 2005. <<http://dx.doi.org/10.1590/S0044-59672005000100011>>

- Gimbo, R.Y.; Saita, M.V.; Gonçalves, A.F.N.; Takahashi, L.S. Diferentes concentrações de benzocaína na indução anestésica do lambari-do-raboamarelo (*Astyanax altiparanae*). *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, v.9, n.2, p.350-357, 2008. <<http://revistas.ufba.br/index.php/rbspa/article/view/1036/618>> 18 Out. 2012.
- Golombieski, J.I.; Marchezan, E.; Monti, M.B.; Storck, L.; Camargo, E.R.; Santos, F.M. Qualidade da água no consórcio de peixes com arroz irrigado. *Ciência Rural*, v. 35, n.6, p.1263-1268, 2005. <<http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782005000600006>>
- Gomes, L.C.; Chippari-Gomes, A.R.; Lopes, N.P.; Roubach, R.; Araújo-Lima, C.A.R.M. Efficacy of benzocaine as an anesthetic in juvenile tambaqui *Colossoma macropomum*. *Journal of the World Aquaculture Society*, v. 32, n. 4, p.426-431, 2001. <<http://dx.doi.org/10.1111/j.1749-7345.2001.tb00470.x>>
- Gonçalves, A.F.N.; Santos, E.C.C.; Fernandes, J.B.K.; Takahashi, L.S. Mentol e eugenol como substitutos da benzocaína na indução anestésica de juvenis de pacu. *Acta Scientiarum. Animal Science*, v. 30, n. 3, p.339-344, 2008. <<http://dx.doi.org/10.4025/actascianimsci.v30i3.1081>>
- Honczaryk, A.; Inoue, L.A.K.A. Anestesia do pirarucu por aspersão direta nas brânquias do eugenol em solução aquosa. *Ciência Rural*, v. 39, n. 2, p.577-579, 2009. <<http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782008005000084>>
- Inoue, L.A.K.A.; Afonso, L.O.B.; Iwama, G.K.; Moraes, G. Effects of clove oil on the stress response of matrinxã (*Brycon cephalus*) subject to transport. *Acta Amazonica*, v. 35, n. 2, p.289-295, 2005. <<http://dx.doi.org/10.1590/S0044-59672005000200018>>
- Inoue, L.A.K.A.; Santos Neto, C.; Moraes, G. Benzocaína como anestésico para juvenis de matrinxã (*Brycon cephalus*). *Boletim Técnico do CEPTA*, v. 15, p.23-30, 2002. <http://www4.icmbio.gov.br/cepta/index.php?id_menu=167>. 18 Out. 2012.
- Inoue, L.A.K.A.; Santos Neto, C.; Moraes, G. Clove oil as anesthetic for juveniles of matrinxã *Brycon cephalus* (Gunter, 1869). *Ciência Rural*, v. 33, n. 5, p.943-947, 2003. <<http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782003000500023>>
- Iwama, G.K.; Vijayan, M.M.; Forsyth, R.B.; Ackerman, P.A. Heat shock proteins and physiological stress in fish. *American Zoology*, v. 39, n.6, p.901-909, 1999. <<http://dx.doi.org/10.1093/icb/39.6.901>>
- Okamoto, M.H.; Tesser, M.B.; Louzada, L.R.; Santos, R.A.; Sampaio, L.A. Benzocaína e eugenol como anestésicos para juvenis do pampo (*Trachinotus marginatus*). *Ciência Rural*, v. 39, n. 3, p.866-870, 2009. <<http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782008005000100>>
- Park, I.S.; Park, M.O.; Hur, J.W.; Kim, D.S.; Chang, Y.J.; Kim, Y.J.; Park, J.Y.; Johnson, S.C. Anesthetic effects of lidocaine-hydrochloride on water parameters in simulated transport experiment of juvenile winter flounder (*Pleuronectes americanus*). *Aquaculture*, v. 294, n.1-2, p.76-79, 2009. <<http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2009.05.011>>
- Rodríguez-Gutiérrez, M.; Esquivel-Herrera, A. Evaluation of the repeated use of xylocaine as anesthetic for handling of beeding carp (*Cyprinus carpio*). *Aquaculture*, v. 129, n.1-4, p.431-436, 1995. <[http://dx.doi.org/10.1016/0044-8486\(94\)00280-2](http://dx.doi.org/10.1016/0044-8486(94)00280-2)>
- Roubach, R.; Gomes, L.C.; Fonseca, F.A.L.; Val, A.L. Eugenol as an efficacious anaesthetic for tambaqui, *Colossoma macropomum* (Cuvier). *Aquaculture Research*, v. 36, n.11, p.1056-1061, 2005. <<http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2109.2005.01319.x>>
- Roubach, R.; Gomes, L.V. O uso de Anestésico durante o manejo de peixes. *Panorama da Aquicultura*, v. 11, n. 66, p.37-40, 2001.
- Vidal, L.V.O.; Albinati, R.C.B.; Albinati, A.C.L.; Lira, A.D.; Almeida, T.R.; Santos, G.B. Eugenol como anestésico para tilápia-do-Nilo. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 43, n.8, p.1069-1074, 2008. <<http://dx.doi.org/10.1590/S0100-204X2008000800017>>
- Vidal, L.V.O.; Albinati, R.C.B.; Albinati, A.C.L.; Macêdo, G.R. Utilização do eugenol como anestésico para o manejo de juvenis de pintado (*Pseudoplatystoma corruscans*). *Acta Scientiarum. Biological Science*, v. 28, n. 3, p.275-279, 2006. <<http://dx.doi.org/10.4025/actascibiolsci.v28i3.400>>
- Vidal, L.V.O.; Furuya, W.M.; Graciano, T.S.; Schamber, C.R.; Silva, L.C.R.; Santos, L.D.; Souza, S.R. Eugenol como anestésico para juvenis de matrinxã (*Brycon cephalus*). *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, v. 8, n. 4, p.335-342, 2007a. <<http://www.rbspa.ufba.br/index.php/rbspa/article/download/798/536>>. 18 Out. 2012.
- Vidal, L.V.O.; Furuya, W.M.; Graciano, T.S.; Schamber, C.R.; Silva, L.C.R.; Santos, L.D.; Soares, C.M. Concentrações de eugenol para anestesia profunda e toxicidade aguda em juvenis de piavuçu (*Leporinus macrocephalus*). *Acta Scientiarum. Biological Science*, v. 29, n. 4, p.357-362, 2007b. <<http://dx.doi.org/10.4025/actascibiolsci.v29i4.838>>
- Woody, C.A.; Nelson, J.; Ramstad, K. Clove oil as an anaesthetic for adult sockeye salmon: field trials. *Journal of Fish Biology*, v. 60, n.2, p.340-347, 2002. <<http://dx.doi.org/10.1111/j.1095-8649.2002.tb00284.x>>
- Zahl, I.H.; Kiessling, A.; Samuelsen, O.B.; Hansen, M.K. Anaesthesia of Atlantic cod (*Gadus morhua*) – effect of pre anaesthetic sedation, and importance of body weight, temperature and stress. *Aquaculture*, v.295, n.1-2, p.52-59, 2009. <<http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2009.06.019>>