

## Benzocaína e eugenol como anestésicos para juvenis de *Pimelodus britskii* (mandi-pintado)

Moacir Bertozi Júnior<sup>1</sup>, Odair Diemer<sup>1</sup>, Dacley H. Neu<sup>1</sup>,  
Fábio Bittencourt<sup>1</sup>, Wilson R. Boscolo<sup>1</sup> & Aldi Feiden<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Centro de Engenharias e Ciências Exatas, Curso de Engenharia de Pesca, Rua da Faculdade, 645, Jardim La Salle, CEP 85903-000, Toledo-PR, Brasil. Caixa Postal 645. E-mail: moacirbj@hotmail.com; odairdiemer@hotmail.com; dacley\_pesca@hotmail.com; fabio\_gemaq@yahoo.com.br; wilsonboscolo@hotmail.com; aldifeiden@gmail.com

### RESUMO

Durante as práticas de manejo na piscicultura o uso de fármacos anestésicos pode configurar segurança ao produtor, pois esses produtos têm a capacidade de reduzir o metabolismo dos animais. O presente trabalho teve como objetivo encontrar a melhor dose de benzocaína e eugenol para a indução e recuperação anestésica em juvenis de mandi-pintado. Foram utilizados 104 peixes com peso médio de  $55,6 \pm 15,3$  g e comprimento total médio  $18,4 \pm 1,4$  cm, distribuídos em delineamento experimental inteiramente casualizado totalizando 13 tratamentos sendo sete diferentes concentrações de eugenol (40, 70, 100, 130, 160, 190 e 220 mg L<sup>-1</sup>) e mais seis concentrações de benzocaína (125, 150, 175, 200, 225 e 250 mg L<sup>-1</sup>), em que foram utilizados, para cada tratamento, oito peixes escolhidos aleatoriamente (n = 8) e expostos individualmente para cada concentração. O eugenol foi eficiente para a anestesia no mandi-pintado nas diferentes doses; contudo, a benzocaína na concentração de 125 mg L<sup>-1</sup> não se mostrou eficiente. Nas condições deste experimento a melhor concentração de eugenol para indução e recuperação anestésica em mandi-pintado foi de 70 mg L<sup>-1</sup> e a de benzocaína foi de 200 mg L<sup>-1</sup>.

**Palavras-chave:** aquicultura, cultivo intensivo, manejo de peixe

## *Benzocaine and eugenol as anesthetic for Pimelodus britskii ('mandi-pintado') juveniles*

### ABSTRACT

During the management practices in fish farming, the use of anesthetic drugs can configure a security to the producer, as these products have the ability to reduce the metabolism of animals. The present study aimed to find the best dose of benzocaine and eugenol for anesthesia induction and recovery in 'mandi-pintado' juvenile. One hundred and four fish with an average weight of  $55.6 \pm 15.3$  g and mean total length  $18.4 \pm 1.4$  cm were used. The study was conducted in a completely randomized design with 13 treatments, i.e. seven different concentrations of eugenol (40, 70, 100, 130, 160, 190 and 220 mg L<sup>-1</sup>) and six concentrations of benzocaine (125, 150, 175, 200, 225 and 250 mg L<sup>-1</sup>), where for each treatment eight randomly chosen fish (n = 8) were used and exposed individually for each concentration. Eugenol for anesthesia was effective in 'mandi-pintado' in different doses. However, benzocaine concentration of 125 mg L<sup>-1</sup> was not efficient. Under the experimental conditions, the best concentration of eugenol for anesthesia induction and recovery in 'mandi-pintado' was 70 mg L<sup>-1</sup> and of benzocaine was 200 mg L<sup>-1</sup>.

**Key words:** aquaculture, intensive culture, fish management

## Introdução

O *Pimelodus britskii* (mandi-pintado) é uma espécie nativa endêmica do rio Iguaçu, considerada com potencial para a piscicultura por ser de grande porte (Neu et al., 2010) e representar excelente opção para os frigoríficos e indústrias alimentícias das regiões Oeste e Sudoeste do Paraná (Veit et al., 2011). Apresenta hábito alimentar onívoro oportunista na fase adulta, preferindo peixes em áreas represadas, como os reservatórios, mas também consome diversos itens em diferentes locais do ambiente aquático (Baumgartner et al., 2012).

Embora a piscicultura brasileira cresça continuamente ano após ano devido às diversas espécies de peixes potenciais, clima, disponibilidade de alimentos, quantidade e qualidade de água, além de mão-de-obra especializada, a mortalidade pode assolar a produção quando manejos incorretos forem empregados (Kubitza, 1998).

No Brasil, anestésias vêm sendo utilizadas para diversas espécies de peixes, procedimento que visa minimizar o estresse e, conseqüentemente, diminuir o sofrimento dos animais; outro ponto de referência para pesquisas voltadas a este ramo é a exigência dos comitês de ética na experimentação animal. Neste cenário é de extrema importância pesquisas voltadas ao conhecimento dos efeitos dessas substâncias para a ictiofauna nacional no intuito de encontrar a dosagem ideal, que pode variar de acordo com inúmeros fatores, tais como fármaco escolhido, etapa de desenvolvimento dos organismos e parâmetros físicos da água, entre outros (Diemer et al., 2012).

Entre os anestésicos mais utilizados na aquicultura se destacam o eugenol e a benzocaína. O eugenol, ou óleo de cravo, é uma substância fenólica obtida da destilação das folhas, caule e flores de *Syzygium aromaticum* (cravo-da-índia) que apresenta, em sua composição, de 70 a 95% do seu princípio ativo (Mazzafera, 2003). A benzocaína é classificada como anestésico local, embora atue de forma sistêmica em peixes, agindo no sistema nervoso central. A benzocaína se destaca pelo seu preço acessível, facilidade e segurança para o manejo (Okamura et al., 2010) tanto do animal como para o aplicador.

Desta forma, o presente trabalho tem por objetivo encontrar a melhor dose de eugenol e benzocaína para a indução e recuperação anestésica em juvenis de *P. britskii* (mandi-pintado).

## Material e Métodos

O trabalho foi desenvolvido na área aquícola do reservatório da Usina Hidrelétrica Governador José Richa (Salto Caxias) - rio Iguaçu, localizado no município de Boa Vista da Aparecida - PR e contou com o apoio do Grupo de Estudos em Manejo na Aquicultura (GEMAQ) da Universidade Estadual do Oeste do Paraná - Unioeste, *campus* Toledo, durante os meses de agosto e setembro de 2012.

Foram utilizados 104 peixes com peso médio de 55,6 ± 15,3 g e comprimento total médio 18,4 ± 1,4 cm, distribuídos em delineamento experimental inteiramente casualizado totalizando 13 tratamentos, dos quais, sete diferentes concentrações de eugenol (40, 70, 100, 130, 160, 190 e 220 mg L<sup>-1</sup>) e mais seis concentrações de benzocaína (125, 150,

175, 200, 225 e 250 mg L<sup>-1</sup>), em que foram utilizados, para cada tratamento, oito peixes escolhidos aleatoriamente (n = 8) e expostos individualmente para cada concentração.

Anterior ao período experimental foi realizada uma classificação dos pesos e comprimento dos peixes para formar um lote homogêneo; para isto se utilizaram dois tanques-rede com volume útil de 5 m<sup>3</sup> cada tanque.

Após um período de aclimação de 20 dias foram iniciados os procedimentos de anestesia, os quais tiveram duração de três dias, sendo um dia para os procedimentos de indução e recuperação anestésica e dois dias para monitoramento da sobrevivência, conforme descrito por Gonçalves et al. (2008).

No dia do procedimento da anestesia todos os peixes foram capturados sendo retirados dos tanques-rede e transportados para uma caixa d'água circular de 1000 litros mas contendo apenas 250 litros de água com renovação constante, cuja água foi retirada do próprio reservatório onde estavam os peixes, através de um bombeamento.

Para o procedimento de anestesia foi capturado aleatoriamente um peixe de cada vez, posteriormente conduzido para um aquário de 30 litros mas contendo apenas 10 litros de água com a respectiva dose de anestésico. O tempo (em segundos) necessário para o aparecimento dos padrões comportamentais avaliados foi monitorado por meio de cronômetro digital, como descrito na Tabela 1.

Quando os animais atingiam o estágio IV (Tabela 1) foram retirados do aquário de indução, secos, medidos (cm) e pesados (g) a fim de simular o processo de manejo e só transferidos para um aquário de recuperação.

A recuperação anestésica dos peixes foi realizada individualmente, em um aquário com volume de 30 litros, contendo apenas 20 litros de água sem anestésico, no qual os peixes foram acondicionados e o tempo de recuperação aferido.

Após seu restabelecimento, os indivíduos foram devolvidos à caixa de água de 1000 litros, onde ficaram em observação durante 48 horas para o monitoramento da sobrevivência.

O eugenol e a benzocaína foram diluídos em álcool etílico (92,8°), o que resultou em solução estoque na proporção de 100 mg mL<sup>-1</sup> (1:10).

As variáveis de qualidade de água do reservatório, como temperatura, oxigênio dissolvido, pH e condutividade elétrica, foram monitoradas constantemente por aparelhos eletrônicos.

Ao final do período experimental os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) com nível de significância de 5% e à análise de regressão através do programa estatístico (Software livre R-2.15).

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

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

Fonte: Woody et al. (2002).

## Resultados e Discussão

As variáveis de qualidade de água do reservatório, temperatura  $20 \pm 0,5$  °C, oxigênio dissolvido  $8,15 \pm 0,52$  mg L<sup>-1</sup> e pH  $7,70 \pm 0,37$  permaneceram dentro da faixa de condição adequada para a criação de peixes tropicais (Arana, 2004). Entretanto, a condutividade elétrica  $6,5 \pm 0,4$  μS cm<sup>-1</sup> foi baixa. Para Moreira et al. (2001) a condutividade elétrica de águas destinadas à piscicultura deve estar entre 20 e 100 μS cm<sup>-1</sup>.

O eugenol foi eficiente para a anestesia no mandi-pintado nas diferentes doses. Em todas as concentrações avaliadas os peixes atingiram adequadamente o estágio IV, que é caracterizado pela ausência de reação a qualquer estímulo; além de que, depois de 48 horas de acompanhamento após a recuperação anestésica, foi verificada a sobrevivência de todos os animais.

Em relação ao tempo de indução dos peixes submetidos ao eugenol (Tabela 2), constatou-se comportamento quadrático nas concentrações testadas ( $P < 0,05$ ). Maior tempo de indução (265 s) foi observado na menor dose testada (40 mg L<sup>-1</sup>) e o menor tempo (83,1 s) foi observado na dose de 220 mg L<sup>-1</sup>. Para recuperação da sedação foi observado efeito linear ( $P < 0,05$ ); com o acréscimo da concentração houve aumento no tempo de recuperação.

Os resultados evidenciaram que conforme aumenta a concentração de eugenol, ocorre uma diminuição no tempo de indução com tendência a uma estabilização nas doses mais

**Tabela 2.** Valores médios do tempo de indução e recuperação anestésica em *Pimelodus britskii* (mandi-pintado) em diferentes concentrações de eugenol

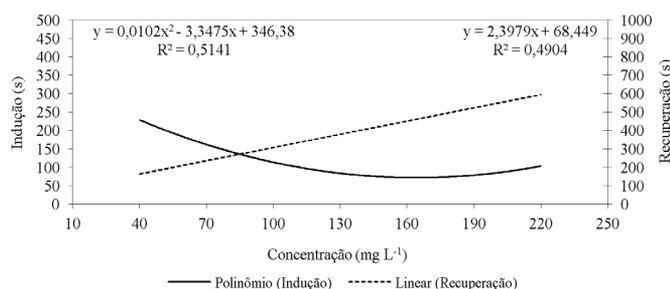
Concentração (mg L <sup>-1</sup> )	Indução (s) <sup>*1</sup>	Recuperação (s) <sup>*2</sup>
40	265,0	181,1
70	108,2	179,1
100	102,9	318,0
130	95,7	416,6
160	92,9	471,4
190	92,9	521,2
220	83,1	573,5
CV (%)	37,99	40,43

<sup>\*1</sup>Efeito quadrático ( $P < 0,05$ );  $y = 0,0102 X^2 - 3,3457 X + 346,38$ ,  $R^2 = 0,5141$ ;

<sup>\*2</sup>Efeito linear ( $P < 0,05$ );  $y = 2,3979 X + 68,449$ ,  $R^2 = 0,4904$ .

elevadas (Figura 1), sendo a concentração com a indução mais rápida, estimada pela equação  $y = 0,0102 X^2 - 3,347 X + 346,38$  igual a 164 mg L<sup>-1</sup> de eugenol.

Nas condições deste estudo a melhor concentração de eugenol para indução e recuperação anestésica do mandi-pintado, foi de 70 mg L<sup>-1</sup>. Dados similares foram reportados



**Figura 1.** Indução e recuperação anestésica de *Pimelodus britskii* (mandi-pintado) em diferentes concentrações de eugenol

por Diemer et al. (2012) quando avaliaram o eugenol como anestésico para *Rhamdia voulezi* (jundiá) em diferentes pesos. Os autores concluíram que a melhor concentração de eugenol para anestesia em jundiás tinha peso variando de 32,5 a 450 g é de 50 mg L<sup>-1</sup>. A dosagem indicada no atual estudo garante que os animais atingem a letargia em menos de 120 segundos de exposição ao produto e em menos de 180 segundo os mesmos podem estar recuperados, tempo este que pode ser útil para pequenas cirurgias, aplicação de chip para identificação do peixe, entre outros procedimentos.

Walsh & Pease (2002), constataram, analisando o efeito do eugenol para anestesia de *Anguilla reinhardtii*, (enguia) que o aumento na dose reduziu o tempo de indução dos peixes, mas quando se aumentam as concentrações cresce o risco de danos branquiais, consequências metabólicas adversas e óbitos (Inoue et al., 2003) porém todas as doses avaliadas no estudo não causaram mortalidades.

A concentração de 70 mg L<sup>-1</sup> mais eficaz observada neste estudo, encontra-se no intervalo sugerido para algumas espécies, como *Oreochromis niloticus* (tilápias-do-Nilo), com peso médio de 5,34 g (Vidal et al., 2008) com dose adequada de 75 mg L<sup>-1</sup> e *Rhamdia quelen* (jundiá) com peso médio de 2,14 g com concentração ideal de 50 mg L<sup>-1</sup> (Cunha, 2010); no entanto, a concentração está abaixo do recomendado para o *Piaractus mesopotamicus* (pacu) com valores adequados variando de 175 a 240 mg L<sup>-1</sup> (Rotili et al., 2012). Esta diferença está associada, provavelmente, ao tamanho dos peixes. Segundo Roubach et al. (2005) peixes pequenos apresentam superfície branquial maior, sendo induzidos à anestesia com uma concentração menor.

O tempo preconizado para a recuperação dos peixes deve ser inferior a 300 segundos (Roubach et al., 2005). Assim, as doses de 100, 130, 160, 190 e 220 mg L<sup>-1</sup> estão acima do desejado indicando que ficam fora da margem de segurança da concentração ideal sendo, portanto, recomendado empregar concentrações inferiores.

A benzocaína na concentração de 125 mg L<sup>-1</sup> não se mostrou eficiente para a anestesia do mandi-pintado, não alcançando o estágio de ausência de reação a qualquer estímulo. Para as demais doses analisadas (Tabela 3), houve diferenças significativas ( $P < 0,05$ ) e após 48 horas de monitoramento não foram observadas mortalidades.

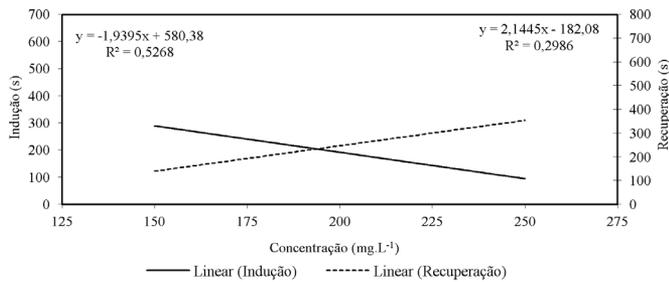
Para a anestesia com benzocaína foi observado efeito linear para indução e recuperação anestésica. Conforme se aumenta a concentração anestésica o tempo para sedação completa do peixe diminui e o período para recuperar a capacidade de fuga aumenta (Figura 2).

**Tabela 3.** Valores médios do tempo de indução e recuperação anestésica de *Pimelodus britskii* (mandi-pintado) em diferentes concentrações de benzocaína

Concentração (mg L <sup>-1</sup> )	Indução (s) <sup>*1</sup>	Recuperação (s) <sup>*2</sup>
150	308,6	123,2
175	236,1	190,5
200	169,8	279,5
225	127,2	308,6
250	120,6	332,2
CV (%)	34,5	49,6

<sup>\*1</sup>Efeito linear ( $P < 0,05$ );  $y = -1,9395 X + 580,375$ ,  $R^2 = 0,5268$ ;

<sup>\*2</sup>Efeito linear ( $P < 0,05$ );  $y = 2,1445 X - 182,075$ ,  $R^2 = 0,2986$ .



**Figura 2.** Indução e recuperação anestésica de *Pimelodus britskii* (mandi-pintado) em diferentes concentrações de benzocaína

Neste estudo ficou patente que a melhor concentração de benzocaína para a letargia em mandi-pintado é de 200 mg L<sup>-1</sup>, dosagem em que a indução e recuperação são adequadas para o uso correto de anestésicos, conforme indicado por Roubach et al. (2005). Esses autores destacam que, para a indução dos peixes, o tempo não deve exceder 180 segundos e a recuperação não mais que 300 segundos.

A concentração de benzocaína recomendada neste estudo está de acordo com o relatado por Okamura et. al. (2010), que indicam uma dose de 190 mg L<sup>-1</sup> para anestesia em *O. niloticus* (Tilápia-do-Nilo). Além disto, os autores relatam que doses maiores não produzem efeitos adicionais que justifiquem a viabilidade de seu emprego.

Uma característica a ser observada na escolha do anestésico é seu resíduo na musculatura do peixe. Neste aspecto, Cho e Heath (2000) relataram que o eugenol possui vantagem sobre a benzocaína por ser rapidamente metabolizado e excretado, não havendo necessidade de depuração.

Os dois produtos avaliados foram eficientes para anestesia do mandi-pintado, sendo importante destacar que a benzocaína apresenta valor de compra inferior porém sendo necessário utilizar doses maiores nos procedimentos adotados; no entanto, os dois fármacos são facilmente encontrados no mercado e possuem preços acessíveis.

## Conclusões

Nas condições experimentais testadas as melhores concentrações de eugenol e benzocaína, para indução e recuperação anestésica, em mandi-pintado foram, respectivamente, 70 e 200 mg L<sup>-1</sup>, sendo as duas substâncias consideradas bons anestésicos para esta espécie.

## Literatura Citada

- Arana, L. V. Fundamentos da aquicultura. Florianópolis: Editora da UFSC, 2004. 349p.
- Baumgartner, G.; Pavanelli, C.S.; Baumgartner, D.; Bifi, A.G.; Debona, T.; Frana, V. A. Peixes do baixo rio Iguaçu. Maringá: Editora da UEM, 2012. 203p.
- Cho, G. K.; Heath, D. D. Comparison of tricaine methanesulphonate (MS 222) and clove oil anesthesia effects on the physiology of juvenile chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha* Walbaum). *Aquaculture Research*, v.31, n.6, p.537-546, 2000. <<http://dx.doi.org/10.1046/j.1365-2109.2000.00478.x>>.
- Cunha, M. A. Anesthesia of silver catfish with eugenol: time of induction, cortisol response and sensory analysis of fillet. *Ciência Rural*, v.40, n.10, p.2107-2114, 2010. <<http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782010005000154>>.
- Diemer, O.; Neu, D. H.; Bittencourt, F.; Signor, A.; Boscolo, W. R.; Feiden, A. Eugenol como anestésico para jundiá (*Rhamdia voulezi*) em diferentes pesos. *Semina: Ciências Agrárias*, v.33, n.4, p.1495-1500, 2012. <<http://dx.doi.org/10.5433/1679-0359.2012v33n4p1495>>.
- 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>>.
- Inoue, L. A. K. A.; Santos-Neto, C.; Moraes, G. Clove oil as anaesthetic for juveniles of matrinxã *Brycon cephalus* (Gunther, 1869). *Ciência Rural*, v.33, n.5, p.943-947, 2003. <<http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782003000500023>>.
- Kubitza, F. Qualidade da água na produção de peixes. *Campo Grande: [s.n.]*, 1998. 60p.
- Mazzafera, P. Efeito alelopático do extrato alcoólico do cravo-da-índia e eugenol. *Revista Brasileira de Botânica*, v.26, n.2, p.231-238, 2003. <<http://dx.doi.org/10.1590/S0100-84042003000200011>>.
- Moreira, S. G.; Kiehl, J. C.; Prochnow, L. I.; Pauletti, V. Calagem em sistema de semeadura direta e efeitos sobre a acidez do solo, disponibilidade de nutrientes e produtividade de milho e soja. *Revista Brasileira Ciência do Solo*, v.25, n.1, p.71-81, 2001. <<http://sbcs.solos.ufv.br/solos/revistas/v25n1a08.pdf>>. 10 Set. 2013.
- Neu, D. H.; Signor, A.; Feiden, A.; Diemer, O.; Finkler, J. K.; Boscolo, W. R. Suplementação de vitamina C na dieta para larvas de mandi-pintado *Pimelodus britskii*. *Acta Veterinaria Brasilica*, v.4, n.4, p.242-246, 2010. <<http://periodicos.ufersa.edu.br/revistas/index.php/acta/article/view/1831/4694>>. 10 Set. 2013.
- Okamura, D.; Araújo, F. G.; Rosa, V. P.; Freitas, R. T. F.; Murgas, L. D. S.; Cesar, M. P. 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. <<http://dx.doi.org/10.1590/S1516-35982010000500005>>.
- Rotili, D. A.; Devens, M. A.; Diemer, O.; Lorenz, E. K.; Lazzari, R.; Boscolo, W. R. Uso de eugenol como anestésico em pacu. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, v.42, n.3, p.288-294, 2012. <<http://dx.doi.org/10.1590/S1983-40632012000300013>>.
- Roubach, R.; Gomes, L. C.; Fonseca, F. A. L.; Val, A. L. Eugenol as an efficacious anesthetic 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>>.
- Veit, J. C.; Freitas, J. M. A.; Reis, E. S.; Maluf, M. L. F.; Feiden, A.; Boscolo, W. R. Caracterização centesimal e microbiológica de nuggets de mandi-pintado (*Pimelodus britskii*). *Semina: Ciências Agrárias*, v.32, n.3, p.1041-1048, 2011. <<http://dx.doi.org/10.5433/1679-0359.2011v32n3p1041>>.
- Vidal, L. V. O.; Albinati, R. C. B.; Albinati, A. C. L.; Lira, A. D.; Almeida, T. R.; Santos, G. B. Eugenol como anestésico para a tilápia do Nilo. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.43, n.8, p.1069-1074, 2008. <<http://dx.doi.org/10.1590/S0100-204X2008000800017>>.

- Walsh, C. T.; Pease, B. C. The use of clove oil as an anaesthetic for the longfinned eel, *Anguilla reinhardtii*. *Aquaculture Research*, v.33, n.8, p.627-635, 2002. <<http://dx.doi.org/10.1046/j.1365-2109.2002.00701.x>>.
- 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>>.