



Tempo de indução e recuperação à anestesia da benzocaína para patinga (*Piaractus mesopotamicus* x *Piaractus brachypomus*)

Induction time of anesthesia and recovery of benzocaine to patinga
(*Piaractus mesopotamicus* x *Piaractus brachypomus*)

Rômulo Batista Rodrigues^{1*}; Iury Wallyson de Amorin Melo¹; Joana D'Arc Maurício Rocha¹;
Thibério Carvalho da Silva²; Vinicius Ricardo Calcagno Bridi¹; Altevir Signor¹; Fábio
Bittencourt¹; Wilson Rogério Boscolo¹

¹Universidade Estadual do Oeste do Paraná. Campus de Toledo. Rua da Faculdade, 645,
CEP 85903-000, Toledo-PR, Brasil. *Autor para correspondência: rodrigues1903@gmail.com

²Universidade Estadual de Maringá. Avenida Colombo, 5790; CEP 87020-900, Maringá-PR, Brasil.

Resumo: Na piscicultura intensiva, anestésicos são utilizados com a finalidade de reduzir o estresse dos peixes durante o manejo. Este trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar a benzocaína como agente anestésico para a patinga. Foram utilizados 60 alevinos com peso médio de $2,08 \pm 0,30$ g e comprimento total médio de $4,56 \pm 0,23$ cm. Avaliaram-se seis concentrações diferentes de benzocaína (50, 100, 150, 200, 250 e 300 mg L⁻¹). Os peixes foram expostos individualmente ao anestésico para avaliação da indução anestésica, após o procedimento de anestesia, os peixes foram transferidos para aquários com água livre de anestésico, para observação do tempo de recuperação. Posteriormente, os peixes de cada tratamento foram colocados em aquários com capacidade de 30 litros para o monitoramento da mortalidade, durante 72 horas. Observou-se diferença significativa ($P < 0,05$) para os tempos de indução e recuperação anestésica para as diferentes concentrações de benzocaína. Observou-se mortalidade de animais em concentrações do anestésico acima de 250 mg L⁻¹. Conclui-se que a benzocaína é eficiente na anestesia de alevinos de patinga sem causar prejuízos até a concentração de 250 mg L⁻¹. Recomenda-se o uso de 150 mg L⁻¹ de benzocaína, pois apresenta eficiência e segurança, sem a necessidade de utilização de doses mais elevadas.

Termos para indexação: Anestesia, hibridação, manejo, piscicultura.

Abstract: In intensive fish farming, anesthetics are used in order to reduce stress fish during handling. This work was carried out to evaluate benzocaine as an anesthetic agent for patinga. Were used 60 fingerlings with an average weight of 2.08 ± 0.30 g and total length of 4.56 ± 0.23 cm. They were evaluated six different concentrations of benzocaine (50, 100, 150, 200, 250 and 300 mg L⁻¹). The fish were individually exposed to anesthetic to evaluate the anesthetic induction, after the anesthesia procedure, the fish were transferred to aquaria with anesthetic free water, for observation of recovery time. Thereafter, the fish in each treatment were placed in tanks with 30 liters for monitoring the mortality during 72 hours. There was a significant difference ($P < 0.05$) for the induction times and recovery room for different concentrations of benzocaine. Mortality was observed in animals anesthetic concentrations above 250 mg L⁻¹. It concludes that benzocaine is effective in anesthesia fry patinga without causing damage to the concentration of 250 mg L⁻¹. It is recommended using 150 mg L⁻¹ benzocaine it presents efficiency and safety, without the need to use higher dosages.

Index Terms: Anesthesia, hybridization, management, pisciculture.

*Autor para correspondência: E. Mail: * rodrigues1903@gmail.com

Recebido em 10.3.2016. Aceito em 22.8.2016

<http://dx.doi.org/10.5935/1981-2965.20160030>

Introdução

A patinga é um híbrido resultado da hibridação interespecífica entre uma fêmea de pacu (*Piaractus mesopotamicus*) e macho de pirapitinga (*Piaractus brachyomus*) (FRANCESCHINI et al., 2013). O processo de hibridação consiste no cruzamento de indivíduos ou grupos geneticamente distintos, podendo envolver cruzamentos dentro de uma única espécie ou cruzamentos entre espécies distintas (hibridação interespecífica). Esta técnica de reprodução é usada para produzir organismos aquáticos com características desejáveis e/ou melhorias no desempenho zootécnico em relação às espécies parentais, causado em virtude do vigor híbrido (BARTLEY et al., 2001).

Apesar do potencial do cultivo de híbridos de peixes na aquicultura, ainda há uma escassez de informações sobre práticas de manejo dessas espécies, nas diferentes fases da vida.

Diversas práticas de manejo realizadas na aquicultura constantemente colocam os peixes expostos a uma variedade de fatores estressantes, que podem afetar seu desempenho (Barton, 2000), pois provoca diminuição na alimentação, aumentando a susceptibilidade dos animais a patógenos e doenças infecciosas (Inoue et al., 2003), sendo que nas fases iniciais de criação, há uma maior sensibilidade dos animais a agentes estressores, podendo ocasionar nos peixes um

estado de imunodepressão (BITTENCOURT et al., 2013).

Como maneira de facilitar o manejo, têm-se utilizado anestésicos, que podem ser injetados no peixe ou diluídos na água (BOWSER, 2001). Os anestésicos são produtos utilizados para facilitar o manejo e, possivelmente, reduzir o estresse dos animais, tanto na pesquisa, quanto em manejo no campo (SMALL, 2004). A escolha de um anestésico é geralmente baseada na viabilidade econômica e em implicações legais (IWAMA & ACKERMAN, 1994).

A benzocaína (*ethyl-p-aminobenzoato*) é um dos agentes anestésicos mais utilizados para a imobilização de peixes no manejo (Inoue et al., 2002), é classificada como anestésico local, embora sua atuação ocorra de forma sistêmica em peixes, agindo no sistema nervoso central (OKAMURA et al., 2010).

No Brasil, a benzocaína é o anestésico mais utilizado, pois é de baixo custo e boa margem de segurança para os peixes (GOMES et al., 2001), não causa problemas no crescimento nem de reprodução (OKAMOTO et al., 2009), não apresenta ação mutagênica (Cabral-Gontijo et al., 2003) e é eliminada do tecido muscular em torno de 24h após a exposição (HONCZARYK & INOUE, 2010).

Trabalhos foram realizados avaliando a eficiência e níveis de segurança do uso de benzocaína (GIMBO et al., 2008;

BITTENCOURT et al., 2012, 2013; SOUZA et al., 2012; OKAMOTO et al., 2009 e OKAMURA et al., 2010), porém, são escassas as informações na literatura sobre o uso de anestésicos para a patinga. Como o manejo dos peixes em ambientes de cultivo é imprescindível, o estudo foi realizado com o objetivo de avaliar os tempos de indução e recuperação anestésica de alevinos do híbrido patinga submetidos a banhos anestésicos com diferentes concentrações de benzocaina.

Material e Métodos

O ensaio experimental 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, PR. Foram utilizados 60 alevinos do híbrido patinga (*Piaractus mesopotamicus* x *Piaractus brachypomus*) com peso médio de $2,08 \pm 0,30$ g e comprimento total médio de $4,56 \pm 0,23$ cm, adquiridos em criatório comercial de peixe localizado no município de Toledo-PR.

Os animais foram divididos e aclimatados durante sete dias, em seis aquários com volume útil de 30 litros, contendo aeração e termostato para controle da temperatura, individuais. Os parâmetros de qualidade da água foram monitorados, e mantidos próximos à faixa de conforto dos animais, assim como foi realizado a limpeza (sifonagem) dos aquários diariamente. Os parâmetros de qualidade de água apresentaram valores de $4,85 \pm 0,40$ mg L⁻¹ para oxigênio dissolvido, $7,35 \pm 0,10$ de pH e $27,20 \pm$

$0,25$ °C de temperatura, aceitáveis para peixes redondos (URBINATI e GONÇALVES, 2005). Os peixes foram alimentados duas vezes por dia até a saciedade aparente, durante o período de aclimatação dos animais. Antes da realização dos testes anestésicos os peixes foram mantidos em um jejum de 24 horas, de acordo com TEIXEIRA et al. (2011).

Avaliaram-se banhos anestésicos com as concentrações de 50, 100, 150, 200, 250 e 300 mg L⁻¹ de benzocaína na água. A benzocaína foi diluída em álcool etílico (98,8%), pois a benzocaína é insolúvel em água (HEAVNER, 1996), resultando em uma solução estoque na proporção de 100 mg.mL⁻¹ (1:10).

Os testes com cada concentração do anestésico foi realizado individualmente, utilizando-se de uma ordem crescente de concentração, da menor para a maior. Utilizaram-se 10 peixes para cada concentração, sendo que cada peixe foi exposto ao anestésico e avaliado, individualmente.

A avaliação dos padrões comportamentais foi realizada de acordo com a Tabela 1, metodologia descrita por Woody et al. (2002), sendo que se utilizou cronometro digital para monitoramento do tempo de cada estágio anestésico. A indução de anestesia foi mantida até que os peixes atingissem o quarto estágio anestésico.

A determinação dos estágios anestésicos foi realizada pela promoção de estímulos externos e avaliação comportamental dos peixes, verificando-se: leve perda de resposta a

estímulos externos; perde total de resposta a estímulos externos; resposta apenas a estímulos táteis e nado errático e ausência de reação de

qualquer estímulo com movimentos operculares lentos.

Tabela 1. Estágios de anestesia em peixes.

Estágio ¹	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
IV	Ausência de reação a qualquer estímulo
Recuperado	Recuperação da posição normal de nado e da capacidade de nadar

¹Adaptado de Woody et al. (2002).

Após a indução anestésica, a recuperação anestésica foi realizada individualmente transferindo os peixes para um meio livre de anestésico, onde a recuperação foi considerada quando os peixes apresentaram retorno parcial de equilíbrio e retorno da capacidade de nadar, segundo WOODY et al. (2002) e HIKASA et al. (1986).

Após o restabelecimento dos animais, os peixes de cada tratamento foram acondicionados em aquário de 30 litros de capacidade, com aeração e controle de temperatura, individuais e constantes, onde foram mantidos durante um período de 72 horas para monitoramento da mortalidade.

Os tempos para atingir os diferentes estágios de anestesia e recuperação da anestesia, para as diferentes concentrações de benzocaína foram utilizados para as análises estatísticas.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA), e quando houve diferenças significativas, aplicou-se o teste de comparação de médias de Tukey com nível de significância de 5%. As análises foram efetuadas por meio do programa computacional Statistic 7.1 (2005).

Resultados e Discussão

O manejo direto de peixes causa um estresse agudo, pois rompe o equilíbrio dos animais com o ambiente de cultivo (BARBOSA et al., 2007). Quando este estresse é de alta intensidade ou duração excessiva, pode resultar em doenças ou até mesmo a morte dos peixes (IWAMA et al., 2004). Com isso se procura maneiras de evitar ou até mesmo minimizar o estresse dos peixes ao manejo rotineiro de uma produção, sendo uma das maneiras mais estudadas e empregadas o uso de agentes anestésicos.

Os resultados sobre os tempos (em segundos) dos estágios de indução a anestesia podem ser observados na Tabela 2. Observaram-se diferenças significativas ($P < 0,05$) entre as diferentes concentrações do anestésico para todos os estágios de anestesia observados,

onde ficou claro que a duração dos estágios de indução diminui com o aumento das doses do anestésico, corroborando com o relatado por Park et al. (2008), que o tempo para a indução à anestesia é influenciado pela concentração do agente anestésico utilizado.

Tabela 2. Tempo (em segundos) dos estágios de indução de alevinos de patinga, expostos às diferentes concentrações de benzocaína (mg L^{-1}).¹

Concentração (mg L^{-1})	Variáveis (segundos)			
	Estágio I	Estágio II	Estágio III	Estágio IV
50	10,40±2,44b	6,10±0,89b	25,70±7,88c	30,90±12,07b
100	7,00±0,89a	4,60±0,92ab	11,20±2,07b	14,20±5,70a
150	6,80±1,16a	4,30±1,13ab	6,60±1,98ab	6,00±0,54a
200	6,20±1,30a	4,40±0,63ab	5,30±1,27ab	4,90±1,00a
250	5,30±0,48a	3,00±0,83a	3,30±0,52a	3,20±0,53a
300	5,60±0,89a	2,70±0,51a	3,20±0,53a	3,30±0,54a
Valor de P	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01

¹Valores seguidos por letras diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente pelo teste Tukey ($P < 0,05$).

Os resultados observados para os tempos em segundos de indução e recuperação anestésica, assim como a taxa de mortalidade de alevinos de patinga expostos a diferentes concentrações de benzocaína podem ser observados na Tabela 3. Observou-se que a indução e recuperação de anestesia foram diferentes ($P < 0,05$) com as distintas concentrações de benzocaína avaliadas. Todos os níveis avaliados de benzocaína levaram os peixes ao quarto estágio de anestesia em menos de três minutos, como recomendado

nos critérios estabelecidos por Ross & Ross (1999), porém na concentração de 300 mg L^{-1} de benzocaína foi observada mortalidade de indivíduos nas 72 horas observadas após a indução anestésica, ou seja, apesar de eficaz, essa concentração não é segura para a espécie.

A concentração de 150 mg L^{-1} apresentou melhor resposta levando em consideração os tempos de indução e recuperação de anestesia, sem causar mortalidade. Arias (1999) relata que a benzocaína atua bloqueando os canais de

sódio, reduzindo desta maneira a ação elevadas do sistema nervoso, induzindo desta forma a anestesia. No entanto, segundo Gimbo et al. (2008) as respostas fisiológicas dos peixes expostos a benzocaína ainda não foram completamente elucidadas e não se conhecem

os efeitos do tempo de exposição dos animais. Contudo, sabe-se que a benzocaína é solúvel em gordura, podendo desta maneira, causar problemas de recuperação anestésica em peixes mais velhos e em fase de prenhes (IVERSEN et al., 2003).

Tabela 3. Tempo (em segundos) de indução e recuperação anestésica, e mortalidade (em 72 horas) de alevinos de patinga, expostos às diferentes concentrações de benzocaína (mg L⁻¹).¹

Concentração (mg L ⁻¹) ¹⁾	Variáveis		
	Indução (segundos)	Recuperação (segundos)	Mortalidade (%)
50	68,66±9,83c	28,87±5,11a	-
100	34,57±5,88b	49±12,05a	-
150	21,50±2,07a	51,14±13,24a	-
200	20±2,16a	188,57±78,04b	-
250	15,20±1,09a	95,85±58,20a	-
300	14,14±2,11a	264,16±57,53b	40
Valor de P	<0,01	<0,01	-

¹Valores seguidos por letras diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente pelo teste Tukey (P<0,05).

Os tempos de recuperação a anestesia observados nos alevinos de patinga ficaram abaixo dos cinco minutos, como recomendado por Ross & Ross (1999), sendo que o tempo de recuperação mais baixo foi observado nos peixes submetidos à concentração de 50 mg L⁻¹, com 31,90 segundos e o maior tempo foi observado nos peixes submetidos à concentração de 200 mg L⁻¹, com 248,70 segundos.

De acordo com os tempos de recuperação anestésica, todas as

concentrações avaliadas se mostraram eficazes para manejos rotineiros como biometrias e manuseio dos peixes, pois não excederam os cinco minutos.

Trabalhos avaliando a eficiência da benzocaína para diferentes espécies de peixes demonstram concentrações ideais diferentes aos obtidos em nosso estudo. Encontraram-se como concentrações ideais de benzocaína: 100 mg L⁻¹ para lambari do rabo amarelo (*Astyanax altiparanae*) (Gimbo et al., 2008); 100 mg L⁻¹ para carpa comum (Bittencourt et al., 2013); 75

mg L⁻¹ para robalo peva (*Centropomus parallelus*) (Souza et al., 2012); 87,5 mg L⁻¹ para quinguios (*Carassius auratus*) (Bittencourt et al., 2012); 50 ppm de benzocaína para juvenis de pampo (*Trachinotus marginatus*) (Okamoto et al., 2009); 190 mg L⁻¹ para tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) (Okamura et al., 2010), entre outros.

Os resultados observados na literatura evidenciam que a eficiência e o nível de segurança do anestésico variam de indivíduo para indivíduo e entre as espécies (Hikasa et al., 1986), pois concentrações anestésicas determinadas para uma espécie pode levar a resultados perigosos para outra (TSANTILAS et al., 2006).

Além disso, outros fatores também podem influenciar na concentração ideal do anestésico, como o tamanho do animal (Roubach et al., 2005), devido à recuperação da anestesia dentro de dez minutos.

Contudo, deve-se salientar que mais estudos são necessários para a correta definição das concentrações eficientes e seguras de benzocaína para as diferentes fases de criação da patinga e para as diferentes condições de criação, pois os parâmetros farmacocinéticos da benzocaína aumentam com o aumento da temperatura da água (Meinertz, 1999) e do ponto de vista econômico o uso da

diferenças entre peso corpóreo e taxa metabólica (Ross & Ross, 2008) e a temperatura da água (WALSH & PEASE, 2002).

A escolha de um agente anestésico para peixes está geralmente relacionada com a sua eficácia na indução e na recuperação dos animais, sem causar mortalidade; sua disponibilidade no mercado e viabilidade econômica; segurança durante o uso e seus possíveis efeitos colaterais aos peixes, seres humanos e ao meio ambiente (MARKING e MEYER, 1985). A benzocaína é facilmente encontrada no mercado e apresentou eficiência na anestesia de alevinos de patinga, pois apresentou as características desejáveis para um anestésico descritas por Park et al. (2003), que é a capacidade de induzir a anestesia em três minutos e possibilitar a concentração correta do anestésico é fundamental, pois evita o desperdício e a possibilidade de morte dos peixes pelo excesso de exposição ao produto (Roubach & Gomes, 2001), já que o uso de produtos químicos em doses elevadas podem causar danos até irreversíveis aos peixes, como perda de muco, irritação da brânquia e lesões na córnea (Inoue et al., 2003), o que em casos mais severos pode levar o peixe a óbito. Desta maneira, fica clara a necessidade de investigações sobre as

doses seguras de agentes anestésicos para as diferentes espécies e fases de criação dos peixes, para que se estabeleçam protocolos do uso correto dos agentes anestésicos que forneçam aos peixes e ao manipulador segurança e seu uso seja economicamente viável.

Conclusão

Conclui-se que neste estudo a benzocaína foi eficaz na indução e

recuperação anestésica para alevinos de patinga.

Considerando-se a eficiência do produto com menor concentração possível, diminuindo o custo de seu uso, recomenda-se a concentração de 150 mg L⁻¹ de benzocaína por serem tão eficientes quantas doses mais elevadas, apresentando baixo tempo de indução e recuperação anestésica, sem causar mortalidade aos peixes.

Referências

1. ARIAS, H.R. Role of local anesthetics on both cholinergic and serotonergic ionotropic. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, v.23, p.817-843, 1999.
2. BARBOSA, L.G.; MORAES, G.; INOUE, L.A.K.A. Respostas metabólicas do matrinxã submetidos a banho anestésico de eugenol. **Acta Scientiarum Biological Sciences**, v.29, p.255-260, 2007.
3. BARTLEY, D.M.; RANA, K.; IMMINK, A.J. The use of inter-specific hybrids in aquaculture and fisheries. **Reviews in Fish Biology and Fisheries**, v.10, p.325-337, 2001.
4. BARTON, B.A. Salmonid fishes differ in their cortisol and glucose responses to handling and transport stress. **North American Journal of Aquaculture**, v.62, p.12-18, 2000.
5. BITTENCOURT, F.; SOUZA, B.E.; BOSCOLO, W.R., RORATO, R.R.; FEIDEN, A.; NEU, D.H. Benzocaína e eugenol como anestésicos para quinguio (*Carassius auratus*). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.64, p.1597-1602, 2012.
6. BITTENCOURT, F.; SOUZA, B.E.; NEU, D.H.; RORATO, R.R.; BOSCOLO, W.R.; FEIDEN, A. Eugenol e benzocaína como anestésicos para juvenis de *Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758 (carpa comum). **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v.8, p.163-167, 2013.
7. BOWSER, P.R. Anesthetic options for fish. In: GLEED, R.D.; LUDDERS, J.W. Recent Advance in Veterinary and Analgesia: Companion animals International Veterinary Information Service, Nova York, 2001, p.223-241.
8. CABRAL-GONTIJO, A.M.M.; BARRETO, R.E.; SPEIT, G.; REYES, V.A.V.; VOLPATO, G.L.; SALVADORI, D.M.F. Anesthesia of fish with benzocaína does not interfere with comet assays results. **Mutation Research**, v.534, p.165-172, 2003.
9. FRANCESCHINI, L.; ZAGO, A.C.; SCHALCH, S.H.C.; GARCIA, F.; ROMERA, D.M.; SILVA, R.J. Parasitic infections of *Piaractus mesopotamicus* and hybrid (*P. mesopotamicus* x *Piaractus brachypomus*) cultured in Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.22, p.407-414, 2013.

10. GIMBO, R.Y.; SAITA, M.V.; GONÇALVES, A.F.N.; TAKAHASHI, L.S. Diferentes concentrações de benzocaína na indução anestésica do lambari-do-rabo amarelo (*Astyanax altiparanae*). **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.9, p.350-357, 2008.
11. GOMES, L.C.; CHIPPAR-GOMES, A.R.; LOPES, N.P.; ROUBACH, R.; ARAUJO-LIMA, C.A.M. Efficacy of benzocaine as an anesthetic in juvenile tambaqui *Colossoma macropomum*. **Journal of the World Aquaculture Society**, v.32, p.426-431, 2001.
12. HEAVNER, J.E. Local anesthetics. In: THURMON, J.C.; TRANQUILLI, W.J.; BENSON, G.J. Lumb & Jones veterinary anesthesia. 3.ed. Williams & Wilkins, Baltimore, 1996, p.330-336.
13. HIKASA, Y.; TAKASE, K.; OGASAWARA, T.; OGASAWARA, S. Anesthesia and recovery with tricaine methanesulfonate, eugenol and thiopental sodium in the carp, *Cyprinus carpio*. **Japanese Journal of Veterinary Science**, v.48, p.341-351, 1986.
14. HONCZARYK, A.; INOUE, L.A.K.A. Anestesia do pirarucu por aspersão da benzocaína diretamente nas brânquias. **Ciência Rural**, v.40, n.1, 2010.
15. INOUE, L.A.K.A.; SANTOS NETO, C.; MORAES, G. Benzocaína como anestésico para juvenis de matrinxã (*Brycon cephalus*). **Boletim Técnico CEPTA**, v.15, p.23-30, 2002.
16. 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, p.943-947, 2003.
17. IVERSEN, M.; FINSTAD, B.; MCKINLEY, R.S.; ELIASSEN, R.A. The efficacy of metomidate, clove oil, AquisTM and Benzoak[®] as anaesthetics in Atlantic salmon (*Salmo salar L.*) smolts, and their potential stress-reducing capacity. **Aquaculture**, v.221, p.549-566, 2003.
18. IWAMA, G.; ACKERMAN, A. Anesthetics. In: HOCHACHKA, P.; MOMMSEN. Analytical techniques in biochemistry and molecular biology of fishes. Elsevier Science, Amsterdam, 1994. p.1-5.
19. IWAMA, G.K.; AFONSO, L.O.B.; TODGHAM, A.; ACKERMAN, P.; NAKANO, K. Are hsp90 suitable for indicating stressed states in fish? **Journal of Experimental Biology**, v.204, p.15-19, 2004.
20. MARKING, L.L.; MEYER, F.P. Are better fish anesthetics needed in fisheries? **Fisheries**, v.10, p.2-5, 1985.
21. MEINERTZ, I.R. Metabolism, elimination, and pharmacokinetics of the fish anesthetic benzocaine. In: SMITH, D.J.; GINGERICH, W.H.; BECONI-BARKER, M.G. Xenobiotics in fish. Klumer Academic Publishers, Dordrecht, 1999. p.189-200.
22. 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, p.866-870, 2009.
23. OKAMURA, D.; ARAÚJO, F.G.; ROSA, P.V.; 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, p.971-976, 2010.

24. PARK, I.S.; JO, J.H.; LEE, S.J.; KIM, Y.A.; PARK, K.E.; HUR, J.W.; YOO, J.S.; SONG, Y.C. Anesthetic 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.
25. PARK, M.O.; HUR, J.W.; IM, S.Y.; SEOL, D.W.; LEE, J.; PARK, I.S. Anaesthetic efficacy and physiological responses to clove oil anaesthetized kelp grouper *Epinephelus bruneus*, **Aquaculture Research**, v.39, n.8, p.877-884, 2008.
26. ROUBACH, R.; GOMES, L.C. O uso de anestésicos durante o manejo de peixes. **Revista Panorama da Aqüicultura**, v.11, n.66, p.37-40, 2001.
27. 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.
28. ROSS, L.G.; ROSS, B. **Anaesthetic and sedative techniques for aquatic animals**. Oxford: Blackwell Science, 1999, 159p.
29. ROSS, L.G.; ROSS, B. **Anaesthetic and sedative techniques for aquatic animals**. 3rd ed. Oxford: Blackwell Science, 2008. 236p.
30. SMALL, B.C. Effect of isoeugenol sedation on plasma cortisol, glucose, and lactate dynamics in channel catfish *Ictalurus punctatus* exposed to three stressors. **Aquaculture**, v.238, p.469-481, 2004.
31. SOUZA, R.A.S.; CARVALHO, C.V.A.; NUNES, F.F.; SCOPEL, B.R.; GUARIZI, J.D.; TSUZUKI, M.Y. Efeito comparativo da benzocaína, mentol e eugenol como anestésicos para juvenis de robalo peva. **Boletim do Instituto de Pesca**, v.38, p.247-255, 2012.
32. STATSOFT, Inc. (2005). STATISTICA (data analysis software system), version 7.1. www.statsoft.com.
33. TEIXEIRA, E.G.; MOREIRA, A.G.L.; MOREIRA, R.L.; LIMA, F.R.S. Mentol como anestésico para diferentes classes de tamanho de tilápia do Nilo. **Archives of Veterinary Science**, v.16, p.75-83 2011.
34. TSANTILAS, H.; GALATOS, A.D.; ATHANASSOPOULOU, F.; PRASSINOS, N.N. KOUSOULAKI, K. Efficacy of 2-phenoxyethanol as an anaesthetic for two size classes of white sea bream, *Diplodus sargus* L., and sharp snout sea bream, *Diplodus puntazzo* C. **Aquaculture**, v.253, p.64– 70, 2006.
35. URBINATI, E.C.; GONÇALVES, F.D. Pacu (*Piaractus mesopotamicus*). In: BALDISSEROTO, B.; GOMES, L.C. Espécies nativas para piscicultura no Brasil. Santa Maria: Editora da UFSM, 2005. p.225-256.
36. WALSH, C.T.; PEASE, B.C. The use of clove oil as an anaesthetic for the longfinned eel, *Anguilla reinhardtii* (Steindachner). **Aquaculture Research**, v.33, p.627-635, 2002.
37. 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.