

Tempo de indução e recuperação à anestesia do eugenol para beta (*Bettas splendens*)*

Induction and recovery time to anesthesia of eugenol to beta (*Bettas splendens*)

Jaize dos Santos Duarte,** Cláucia A. Honorato,*** Tayza Ribeiro Dos Santos**

Resumo

O manejo de cultivo é inevitável, por razões operacionais intrínsecas a atividade que podem ocasionar estresse nos peixes. Diversas estratégias são apontadas para atenuar os efeitos do estresse em peixes como a utilização de anestésico em algumas práticas de manejo. Dentre os anestésicos com potencial para utilização na piscicultura destaca-se o eugenol, devido às características de eficácia, segurança e de baixo custo. Este trabalho tem o objetivo de avaliar o uso do eugenol como anestésico para betas (*Bettas splendens*) machos. Os resultados foram analisados segundo um delineamento inteiramente casualizado com seis tratamentos (controle, 12, 25, 50, 100 e 200mg L⁻¹ de eugenol) e dez repetições. As análises de variância (ANOVA) e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey. A utilização de dose de 200 mg.L⁻¹ apresentou mortalidade de 50% da população. A concentração de 25mg.L⁻¹ de eugenol foi eficiente em promover sedação em 120 seg e as concentrações acima de 50 mg.L⁻¹ obtiveram tempo de indução anestésica inferiores a 60 seg. A recuperação dos Bettas apresentou correlação inversa ao tempo de anestesia. O tempo de recuperação a sedação não apresentou diferença significativa até a dose de 100mg. L⁻¹ de eugenol. Conclui-se que o eugenol é um anestésico adequado para beta (*Bettas splendens*), sendo a concentração considerada adequada às concentrações de 25 e de 50mg. L⁻¹ de eugenol.

Palavras-chave: anestesia, ornamental, manejo de peixes.

Abstract

The stress in fish is due to the management during its development in intensive system. The causes of stress in fishes are related to environmental factors and management. Some strategies are aimed at alleviating the effects of stress in fish such as the use of anesthetic in some management practices. Among the anesthetics with potential for use in fish farming stands eugenol, due to the characteristics of effectiveness, safety and low cost. The aim of this study was to evaluating the use of eugenol as an anesthetic for betas (*Bettas splendens*) males. The results were analyzed in completely randomized design with six treatments (control, 12, 25, 50, 100 and 200 mg L⁻¹ of eugenol) and ten repetitions. The use of dose of 200 mg. L⁻¹ had mortality of 50 of the population. The concentration of 25 mg. L⁻¹ of eugenol was effective in promoting sedation in 120 sec and concentrations above 50 mg. L⁻¹ revealed anesthetic induction time of less than 60 sec. The recovery of *Bettas splendens* has inverse correlation to time of anesthesia. Recovery time sedation did not present significant difference until the dose of 100 mg L⁻¹ of eugenol. It is concluded that eugenol is a suitable anesthetic for *Bettas splendens* being the concentration considered adequate is the concentrations of 25 and 50 mg L⁻¹ of eugenol.

Keywords: anesthesia, ornamental, induction time, fish management.

Introdução

A produção e comercialização de peixes ornamentais destacaram-se no cenário de Agronegócio (Melo et al., 2015). Dentre as espécies de peixes ornamentais, está o beta (*Bettas splendens*) espécie considerada ícone do aquarismo com grande popularidade e aceitação. Atualmente, no Brasil, além do aquarismo convencional, essa espécie tem sido utilizada como controle biológico de mosquitos, como os das espécies *Aedes aegypti*, no Ceará, e o da *Culex quinque fuscatus* em Pernambuco (Pamplona et al., 2004).

Os peixes ornamentais durante o cultivo, frequentemente precisam ser manejados para classificação e comercialização, o que promove mudanças no ambiente e altera sua homeostasia. A utilização de substâncias anestésicas pode diminuir injúrias e morte durante as práticas de manejo (Gholipourkanani et al., 2013). Dentre os anestésicos com potencial para utilização na piscicultura destaca-se o eugenol. Esta substância é muito usada na odontologia como componente de seladores e outros produtos antissépticos de higiene bucal, tendo comprovado efeito bactericida e também empregado para a produção de

*Recebido em 28 de maio de 2015 e aceito em 4 de agosto de 2015.

**Acadêmica do Curso de Medicina Veterinária, Faculdade de Ciências Biológicas e da Saúde, Centro Universitário da Grande Dourados – UNIGRAN.

***Professora Doutora em Ciências Fisiológicas, Docente do curso de Medicina Veterinária, Faculdade de Ciências Biológicas e da Saúde, Centro Universitário da Grande Dourados – UNIGRAN.

Correspondência: ¹Hospital Veterinário, Faculdade de Ciências Biológicas e da Saúde, Medicina Veterinária, Centro Universitário da Grande Dourados – UNIGRAN, E mail: clauciahonorato@yahoo.com.br

outros compostos fenólicos (Mazzafera, 2003). O eugenol é recomendado como um anestésico com poucos riscos de intoxicação (Inoue et al., 2011), eficácia, segurança e de baixo custo (Padua et al., 2012). Sua eficácia foi demonstrada para tambaqui *Colossoma macropomum* (Inoue et al., 2011), tilápia *Oreochromis niloticus* (Delbon e Paiva, 2012), pacu *Piaractus mesopotamicus* (Rotili et al., 2012), patinga *Piaractus brachypomus* (Martins et al., 2014) e Jundiá da Amazônia (*Leiarius marmoratus*) (Honorato et al., 2014).

No entanto, a anestesia em peixes pode ser afetada por fatores biológicos tais como diferença entre espécies e de tamanho (Rotili et al., 2012) e pode promover alterações nas funções respiratórias e regulação iônica (Gholipourkanani et al., 2013), promovendo mortalidade dos peixes.

Este trabalho tem o objetivo de avaliar o uso do eugenol como anestésico para betas (*Bettas splendens*) machos.

Material e métodos

O trabalho foi aprovado pela Comissão de Bioética (Processo 104/11) e realizado de acordo com as normas técnicas de biossegurança e ética.

O ensaio foi conduzido no Laboratório de Produção Animal do Centro Universitário da Grande Dourados – UNIGRAN. Foram utilizados 60 betas machos com peso de $1,94 \pm 0,10$ g, alojados individualmente em aquários de três litros. Os aquários foram mantidos em laboratório aquecido com temperatura de 27°C e fotoperíodo de 12 horas de luz. Os peixes foram aclimatados por sete dias e receberam ração comercial para espécie, até a saciedade aparente.

A qualidade de água foi monitorada diariamente com o multiparâmetro HANNA modelo HI929828-13 (Hanna instruments Brasil, São Paulo), no qual foram aferidos: temperatura, potencial hidrogeniônico (pH), condutividade elétrica e alcalinidade. As análises de amônia e nitrito foram realizadas pelo método colorimétrico Indotest (Barcelona, Espanha).

O eugenol, por ser oleoso, foi diluído em álcool etílico (92,8°), no que resultou em solução-estoque à concentração de 100mg mL⁻¹ (1:10). Para se determinar a influência da concentração, na indução e na recuperação anestésica dos peixes, foram testados seis tratamentos (controle, 12, 25, 50, 100 e 200mg L⁻¹ de eugenol). Para cada tratamento foram utilizados dez exemplares de Bettas machos (n = 10), coletados aleatoriamente e submetidos, individualmente, ao banho anestésico. O tempo de anestesia e de recuperação foi obtido por meio de um cronômetro digital. O teste com anestésico foi realizado da menor para a maior concentração em aquários diferentes.

O tempo necessário para a latência total dos peixes, considerado o período entre o início da exposição até a perda total de equilíbrio na coluna de água e a parada dos batimentos operculares, condição equivalente ao estágio III de anestesia (Ross & Ross, 2008). Após atingir o estágio III, os peixes foram pesados e posteriormente transferidos para um aquário com água sem anestésico, onde foi monitorado o tempo de recuperação, considerado como o período necessário para que os peixes recuperassem o equilíbrio e a natação ativa na coluna de água.

Os resultados foram analisados segundo um delineamento inteiramente casualizado (DIC) com seis tratamentos (concentrações de eugenol) e dez repetições. As análises de variância (ANOVA) e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey.

Resultados e discussão

A água foi mantida em condições semelhantes entre a caixa de aclimação dos peixes, a unidade de anestesia e a de recuperação à anestesia, registrando-se temperatura média de $22,0 \pm 0,3$ °C, pH de $6,8 \pm 0,2$, alcalinidade $46,27 \pm 8,9$ mg.L⁻¹ e condutividade $23,6 \pm 6,4$ µS.cm⁻¹, e concentrações de amônia e de nitrito inferiores a 0,04mg L⁻¹ e 0,1mg L⁻¹, intervalos considerados adequados para a manutenção de espécies de peixes tropicais (Urbinati e Gonçalves, 2005).

Em todas as concentrações, os animais atingiram o estágio de anestesia profunda em diferentes tempos. Durante a indução anestésica, o comportamento dos peixes seguiu o padrão: hiperatividade ao primeiro contato com o anestésico, caracterizada pela natação agitada contra as paredes do aquário; natação lenta; diminuição dos batimentos operculares, parada do animal na posição dorso ventral (“barriga para cima”), perda da reação aos estímulos externos e perda do tônus muscular.

Nos peixes submetidos a concentrações crescentes até 100 mg.L⁻¹ não foi observada mortalidade. Concentrações acima de 200mg.L⁻¹ apresentaram mortalidade de 50% da população (Figura 1). Bittencourt et al., (2012) observaram para *Carassius aurata* com 2,7g que a concentração de 75mg.L⁻¹ acarretaram em morte de 25% dos peixes. Martins et al., (2014) para juvenis de patinga observaram mortalidade de 100% da população utilizando a concentração de 150mg.L⁻¹. Estas diferenças interespecíficas estão associadas à tolerância de cada espécie de peixe a substância anestésica e sua atuação no controle eletrolítico (Honorato et al., 2014).

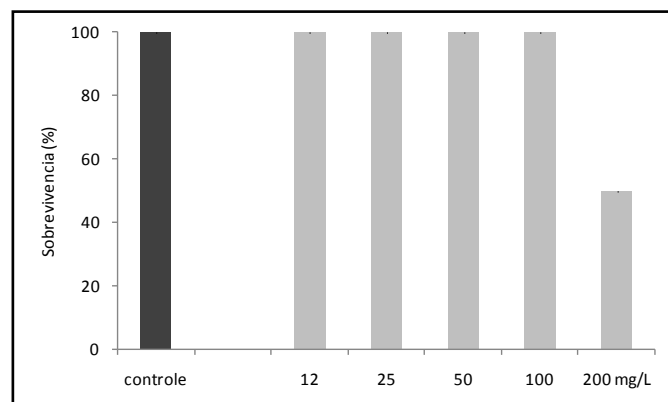
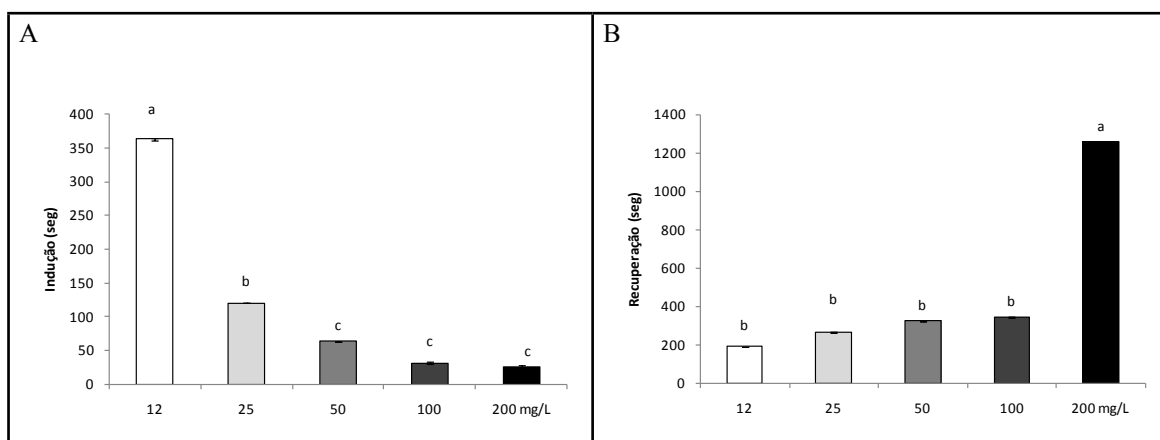


Figura 1: Percentual de sobrevivência de beta (*Bettas splendens*) submetido a diferentes concentrações de eugenol

Os tempos de sedação e recuperação de beta (*Bettas splendens*) submetidos a diferentes concentrações de eugenol estão apresentados na Figura 2. As concentrações acima de 50 mg.L⁻¹ obtiveram tempo de indução anestésica inferiores a 60 seg (Figura 2A). Bittencourt et al., (2012) observaram para *Carassius aurata* que concentrações inferiores a 37,5mg.L⁻¹

não foram suficientes para induzir à sedação. Neste estudo para *Bettas* machos observou-se que a concentração de 25mg.L⁻¹ de eugenol foi eficiente em promover anestesia em 120 seg. Nos estudos de concentração de anestésico para peixes observa-se a concentração de indução em torno de 50 a 60 mg.L⁻¹ (Rotili et al., 2012; Martins et al., 2014; Honorato et al., 2014), no entanto, são informações de peixes na fase de juvenil e de aptidão para produção de carne. Para espécies de peixes ornamentais há uma carência de informações considerando-se principalmente que a indução anestésica seria em peixes adultos.

anestesia profunda deve ser inferior a 600 seg (Park et al., 2008). Tempo de recuperação acima de quatro minutos podem levar o peixe a um quadro de estresse (Martins et al., 2014) devido à insuficiência das trocas gasosas levando o peixe a acidose respiratória (Honorato et al., 2014). Milson (2012) descrevem que o aumento na pressão de CO₂ arterial, e concomitante diminuição do pH, são inevitáveis durante a hipercarbia, mecanismo este utilizado para alterar o gradiente de difusão entre o sangue e água diminuindo a PCO₂. Em um estudo com *C. aurata* o tratamento com concentração de 75mg.L⁻¹ de eugenol



A recuperação dos *Bettas* apresenta correlação inversa ao tempo de indução (Figura 2B). O tempo de recuperação a sedação não apresentou diferença significativa até a concentração de 100mg. L⁻¹ de eugenol. A concentração de 100mg. L⁻¹ de eugenol proporcionou anestesia rápida dos peixes (26,0±2,8 seg); no entanto, o tempo de recuperação foi de 1260 seg (superior a 20 min). O tempo de recuperação recomendado indução a

proporcionou tempo de recuperação acima de 15 minutos, não sendo adequado para o bem-estar dos peixes (Bittencourt et al., 2012). Portanto, para definir a dose de eugenol para a espécie de peixes deve-se considerar tanto o tempo de indução como o tempo de recuperação.

Conclui-se que o eugenol pode ser utilizado nas concentrações de 25 e de 50mg. L⁻¹ como anestésico para beta (*Bettas splendens*).

Referências

BITTENCOURT, F.; SOUZA, B.E.; BOSCOLO, W.R.; RORATO, R.R.; FEIDEN, A.; NEU, D.H. Benzocaina e eugenol como anestésicos para quingui (*Carassius auratus*). *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 64, n. 6, p. 1597-1602, 2012.

CARDOSO, R. S.; IGARASHI, M.A. Aspectos do agronegócio da produção de peixes ornamentais no Brasil e no mundo. *Pubvet*, v. 13, n. 15, p. 40-42, 2009.

DELBON, M. C. E.; PAIVA, M. J. T. R. Eugenol em juvenis de tilápia do Nilo: concentrações e administrações sucessivas. *Boletim do Instituto de Pesca*, v. 38, n. 1, p. 43-52, 2012.

GHOLOUPURKANANI, H.; AHADIZADEH, S. Use of propofol as an anesthetic and its efficacy on some hematological values of ornamental fish *Carassius auratus*. *Springer Plus*, v. 76, n. 2, p. 1-5, 2013.

HONORATO, C. A.; DAMBROS, A.; MARCONDES, V.M.; NASCIMENTO, C.A. Utilização do eugenol em Jundiá da Amazônia (*Leiarius marmoratus*): implicações na sedação e avaliação hemogasométrica. *Semina: Ciências Agrárias*, v. 35, n. 5, p. 2759-2768, 2014.

INOUE, L. A. K.; BOIJINK, C. L.; RIBEIRO, P. T.; SILVA, A.M.D.; AFFONSO, E.G. Avaliação de respostas metabólicas do tambaqui exposto ao eugenol em banhos anestésicos. *Acta Amazonica*, v. 41, n. 2, p. 327-332, 2011.

MARTINS, G. H.; MAZOTI, J. I.; BERCINI, V. M.; HONORATO, C. A. Tempo de indução e recuperação à anestesia do eugenol para Patinga (*Piaractus brachypomus*). *Arq. Ciênc. Vet. Zool. UNIPAR*, v. 17, n. 4, p. 243-247, out./dez. 2014.

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.

MELO, J.F.B.; BARBOSA, B.C.; NEVES, K.V.T. Fortalecimento da piscicultura de corte e ornamental nas colônias de pescadores da região do vale do São Francisco. *Extramuros - Revista de Extensão da Univasf*, v. 3, n. 1, p. 213-216, 2015.

MILSOM, W. K. New insights into gill chemoreception: Receptor distribution and roles in water and air breathing fish. *Respiratory Physiology & Neurobiology*, v. 184, n. 3, p.326-339, 2012.

PADUA, S.B.; PIETRO, P. S.; IGLESIAS-FILHO, P. S.; ISHIKAWA, M. M.; HISANO, H. Mentol como anestésico para dourado (*Salminus brasiliensis*). *Boletim do Instituto de Pesca*, v. 36, n. 2, p. 143-148, 2010.

PAMPLONA, G.C.; LIMA, J.W.O.; CUNHA, J.C.L. Evaluation of the impact on *Aedes aegypti* infestation in cement tanks of the municipal district of Canindé, Ceará, Brazil after using the *Bettas splendens* fish as an alternative biological control. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 37, p.400-404, 2004.

PARK, M.O. HUR, W.J.; 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, p. 877-884, 2008.

ROSS, L. G.; ROSS, B. *Anaesthetic and sedative techniques for aquatic animals*. 3. ed. Oxford: Blackwell, 222 p., 2008.

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, Goiânia, 2012.

URBINATI, E.C.; GONÇALVES, F.D. *Pacu (Piaractus mesopotamicus)*. In: BALDISSEROTO, B.; GOMES, L.C. (eds). *Espécies nativas para piscicultura no Brasil*. Santa Maria: UFMS, p. 225-246, 2005.