

**DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE EUGENOL NA ANESTESIA DE MOLINÉSIA  
*Mollienesia sp.***Emanuel Soares dos SANTOS<sup>1\*</sup>; Tarcio Gomes da SILVA<sup>1</sup>; Robério Mires de FREITAS<sup>1</sup><sup>1</sup>Instituto Federal de Educação, Ciências e Tecnologia do Ceará – IFCE - Campus Acaraú

\*e-mail: emanuelaqua@yahoo.com.br

Recebido em 24/12/2015

**Resumo** - Para que um anestésico seja utilizado com eficiência é importante estabelecer a sua concentração e o tempo ideal de exposição, desta forma a presente pesquisa procurou identificar a concentração mais adequada do anestésico eugenol a ser utilizada na insensibilização de juvenis de molinésias *Mollienesia sp.* por meio de banhos de imersão e os tempos necessários para atingirem o nível de anestesia profunda e recuperação. Utilizando um cronometro digital foi realizada a cronometragem do tempo necessário para a anestesia, biometria e recuperação de dez molinésias, em cada uma das cinco concentrações do anestésico eugenol (10, 20, 30, 40 e 50 mg L<sup>-1</sup>) testadas. Em relação ao tempo de biometria e ao tempo de recuperação não foi observada diferença estatisticamente significativa entre as cinco concentrações testadas. O tratamento que utilizou a concentração de eugenol de 10 mg L<sup>-1</sup> apresentou um maior tempo médio para anestesia (315,1 ± 130s) em relação aos demais tratamentos. Os tratamentos que usaram 20, 30, 40 e 50 mg L<sup>-1</sup> obtiveram resultados de 119,8 ± 25,9s; 116,9 ± 33s; 93,3 ± 33,7s e 62,3 ± 10,2s, respectivamente. Não é indicado uso do eugenol na concentração de 10 mg L<sup>-1</sup>, pois o tempo de indução anestésica é muito longo. As demais concentrações utilizadas apresentaram resultados dentro dos padrões sugeridos pela literatura, no entanto as concentrações de 30 e 40 mg L<sup>-1</sup> foram as mais seguras, pois não observou-se mortalidade no período de 96 horas. Recomenda-se a concentração de 30 mg L<sup>-1</sup> para a anestesia dos juvenis de molinésia.

Palavras-Chave: Anestesia profunda, Biometria, Insensibilização, Óleo de cravo, Peixe ornamental

**EUGENOL DIFFERENT CONCENTRATIONS FOR ANESTHESIA MOLLY *MOLLIENESIA SP.***

**Abstract** - For an anesthetic is used efficiently it is important to establish your concentration and the ideal exposure time, thus the present study sought to identify the concentration of anesthetic eugenol most appropriate to be used in stunning of juvenile mollies *Mollienesia sp.* by dipping baths and times necessary to achieve the level of deep anesthesia and recovery. Using a digital timer was carried out at timing of the time required for anesthesia and recovery biometrics mollies 10 in each of the five concentrations of the anesthetic eugenol (10, 20, 30, 40 and 50 mg L<sup>-1</sup>) tested. In relation to the biometric time and recovery time statistically significant difference was observed among the five concentrations tested. The treatment that used the concentration of eugenol of 10 mg L<sup>-1</sup> had a higher average anesthesia time (315.1 ± 130s) compared to other treatments. The treatments used 20, 30, 40 and 50 mg L<sup>-1</sup> obtained results 119.8 ± 25.9s; 116.9 ± 33s; 93.3 ± 33.7s and 62.3 ± 10.2s respectively. Not suitable use of eugenol in a concentration of 10 mg L<sup>-1</sup>, because the anesthesia induction time is too long. The remaining concentrations used showed results within the standards suggested by the literature, however the concentrations of 30 and 40 mg L<sup>-1</sup> were safer because it is not observed mortality within 96 hours. It is recommended that the concentration of 30mg L<sup>-1</sup> for the anesthesia of Molly juveniles.

Keywords: Deep anesthesia, Biometrics, Stunning, Clove oil, Ornamental fish

## INTRODUÇÃO

A família Poeciliidae é composta por aproximadamente duzentos e vinte espécies divididas em vinte e oito gêneros (LUCINDA, 2003; LUCINDA; REIS, 2005). Esta família se apresenta dividida nos gêneros: Mollienesia, Allopoecilia, Limia, Pamphorichthys, Lebistes e Micropoecilia que, posteriormente, foram agrupados em um único gênero Poecilia, mantendo quatro subgêneros. Este gênero resultante é muito complexo e amplamente distribuído, desde o sudeste dos Estados Unidos, passando pela Bolívia e indo até o sul do Brasil. Os poecilídeos são encontrados em uma ampla gama de habitats, apresentam diferenciação morfológica e comportamental dentro e entre espécies (BRENDEN et al. 1999).

O subgênero Mollienesia é composto por pelo menos quinze espécies descritas (PTACEK, 2005), dentre as quais destacam-se entre os criados no Brasil: *Poecilia sphenops* (Valenciennes, 1846), *Poecilia latipinna* (Lesueur, 1821) e *Poecilia velifera* (Regan, 1914), que são popularmente conhecidos como molinésias, sendo estes peixes de pequeno porte com tamanho comercial variando entre 5,0 e 7,0 cm. Os machos são mais coloridos que as fêmeas e possuem uma longa nadadeira dorsal adiposa que lhes dá uma aparência fabulosa (KUÇUK, 2009). São peixes filtradores fitoplanctófagos com reconhecida rusticidade entre os aquarofilistas e aquicultores ornamentais. As espécies dessa família são peixes tropicais, euritérmicos e eurialinos. Apesar de não serem peixes muito prolíferos, por serem vivíparos, o que facilita a perpetuação da prole, pois os peixes já nascem com tamanho grande, quando comparado a outras espécies de peixes ornamentais (HERNÁNDES; BÜCKLE, 2002; SCHLUPP; PARZEFALL; SCHARTL, 2002).

Apesar da maior parte da indústria aquícola mundial ter seu foco na produção de alimentos, a aquicultura ornamental tem grande importância, em que se estima que o comércio varejista mundial de peixes ornamentais movimentou mais de 350 milhões de animais anualmente, dos quais 80 a 90% são de espécies de água doce (BARTLEY, 2000; HELFMAN et al., 2009 apud SAXBY et al., 2010).

Para alguns países, a produção de peixes ornamentais é de fundamental importância, como é o caso de Singapura, que responde por 40% das exportações, já nos Estados Unidos, a produção de peixes ornamentais é o quarto maior setor da aquicultura, ficando atrás apenas dos cultivos de bagre do canal, truta e salmão (TLUSTY, 2002). Por sua vez, o Brasil apresenta um grande potencial para o desenvolvimento do setor de peixes ornamentais como uma importante fonte de renda para população rural e urbana, pois este tem excepcional capacidade de geração de emprego para a população de baixa renda (RIBEIRO; LIMA; FERNANDES, 2010).

Os manejos utilizados nas pisciculturas, assim como pelos aquaríofílistas, normalmente, têm forte impacto sobre a fisiologia e comportamento dos peixes e a anestesia pode ser utilizada para facilitar o manejo e reduzir os danos físicos, tanto aos peixes como ao operador (ROSS; ROSS, 2008). No entanto, é necessário o conhecimento da concentração ideal da substância a ser utilizada para a indução ao estágio desejado de anestesia, pois sabe-se que as concentrações variam conforme a espécie e o tamanho do peixe (ROSS; ROSS, 2008).

O “óleo de cravo” é um produto vegetal que tem sido utilizado para diversas aplicações na medicina popular (LAPEMM, 2005 *apud* VIDAL *et al.*, 2007). Este é um composto fenólico resultado da destilação das folhas e flores das árvores de cravo da Índia *Syzygium aromaticum*, tendo o eugenol, ou 4-alil-2-metoxifenol como a substância ativa (MAZZAFERA, 2003 *apud* VIDAL *et al.*, 2007; AFFONSO *et al.*, 2012).

Nos últimos anos, diversas pesquisas vêm sendo realizadas comprovando a segurança e eficácia do eugenol como anestésico em diversas espécies de peixes (VIDAL *et al.*, 2006; VIDAL *et al.*, 2007; VIDAL *et al.*, 2007; GONÇALVES *et al.* 2008; HONCZARYK; INOUE, 2008; OLIVEIRA *et al.*, 2009; PAWAR *et al.*, 2011; SIMÕES *et al.*, 2012; GHOLIPOUR KANANI *et al.*, 2013; MITJANA *et al.*, 2014; BALAMURUGAN *et al.*, 2015),

Para que um anestésico seja utilizado com eficiência é importante estabelecer a sua concentração e o tempo ideal de exposição (INOUE *et al.*, 2003 *apud* SIMÕES *et al.*, 2012). Desta forma, a presente pesquisa objetivou identificar a concentração mais adequada do anestésico eugenol a ser utilizada na insensibilização de juvenis de molinésias *Mollienesia* sp. por meio de banhos de imersão e os tempos necessários para atingirem o nível de anestesia profunda e recuperação.

## MATERIAL E MÉTODOS

Para a preparação da solução-estoque do anestésico a base de eugenol foi seguido o procedimento descrito por Vidal *et al.* (2008), em que se utilizou 5,0 ml do óleo essencial de cravo da Biodinâmica, na concentração de 1,0 g mL<sup>-1</sup>, que em razão de sua natureza oleosa, foi diluído em 50 ml de álcool etílico (92,8°), resultando em uma solução-estoque à concentração de 100 mg mL<sup>-1</sup> (1:10).

Foram testadas cinco concentrações do anestésico: 10 mg L<sup>-1</sup>, acrescentando 0,1 ml da solução estoque em 1,0 litro de água; 20 mg L<sup>-1</sup>, acrescentando 0,2 ml da solução estoque em um 1,0 litro de água; 30 mg L<sup>-1</sup>, acrescentando 0,3 ml da solução estoque em 1,0 litro de água; 40 mg L<sup>-1</sup>, acrescentando 0,4 ml da solução estoque em 1,0 litro de água; e 50 mg L<sup>-1</sup>, acrescentando 0,5 ml da solução estoque em 1,0 litro de água. A anestesia foi realizada por meio de banhos de imersão,

em que cada indivíduo era anestesiado individualmente.

Foram utilizados juvenis de molinésia *Mollienesia* sp. retirados aleatoriamente em meio a uma população de 90 espécimes estocados em um aquário de vidro contendo 75 litros de água e aeração constante. Utilizando um cronometro digital foi realizada a cronometragem do tempo necessário para a anestesia, biometria e recuperação de dez molinésias, sendo utilizada cada uma das cinco concentrações do anestésico eugenol (10, 20, 30, 40 e 50 mg L<sup>-1</sup>) testadas, totalizando um “n” amostral de cinquenta peixes.

Para o processo de anestesia foi utilizado um aquário de vidro com 1,0 litro de água e anestésico, conforme a concentração testada, no qual os peixes eram colocados individualmente até que atingissem o estágio IV, anestesia profunda, segundo escala proposta por Ross; Ross (2008), conforme exposto no Tabela 01 a seguir:

**Tabela 01.** Descrição dos 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	Narcole	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.

Adaptado de Ross; Ross (2008); Vidal *et al.* (2008).

Para a recuperação foi usado um aquário com as mesmas características, porém com aeração constante por meio de um soprador e pedra porosa. Após a recuperação total, os peixes foram transferidos, separadamente, conforme a concentração de anestésico utilizado para aquários de vidro com 75 litros e aeração constante para observação por 96 horas.

A temperatura da água do aquário de onde os peixes eram retirados estava em  $26,5 \pm 0,2^{\circ}\text{C}$  e dos aquários de anestesia e recuperação era de  $27,7 \pm 0,3^{\circ}\text{C}$ , sendo válido salientar que houve diferença estatisticamente significativa entre estes e o primeiro. Durante a biometria foi realizada a medição do comprimento furcal (mm peixe<sup>-1</sup>), utilizando paquímetro digital Wester 150 mm, e do

peso médio (g peixe<sup>-1</sup>), utilizando balança digital MARK S3201.

Os dados foram submetidos a Análise de Variância (ANOVA), um critério em nível de significância de 5,0% ( $\rho = 0,05$ ) e ao teste de Tukey para a comparação entre as médias, utilizou-se o software BIOESTAT 5.0.

## RESULTADOS

O tratamento em que os peixes foram anestesiados com eugenol na concentração de 10 mg L<sup>-1</sup> foi o que utilizou os peixes com menor tamanho ( $0,27 \pm 0,03$  g peixe<sup>-1</sup>), já a concentração de 40 mg L<sup>-1</sup> utilizou os peixes de maior tamanho ( $0,48 \pm 0,02$  g peixe<sup>-1</sup>). As demais concentrações utilizaram peixes com tamanhos intermediários e estatisticamente não apresentaram diferença significativa entre eles e entre os dois anteriormente citados. É válido salientar que os peixes foram coletados de forma completamente aleatória.

Em relação ao comprimento não foi observada diferença estatisticamente significativa entre os peixes dos tratamentos testados. O resultado da biometria realizada nas cinco diferentes concentrações testadas durante o experimento, assim como os resultados dos testes estatísticos podem ser observados na Tabela 02.

**Tabela 02.** Resultados de peso médio (g peixe<sup>-1</sup>) e comprimento médio (mm peixe<sup>-1</sup>) dos molinésias utilizados nos cinco tratamentos experimentais.

Parâmetros	Concentrações de Eugenol				
	10 mg L <sup>-1</sup>	20 mg L <sup>-1</sup>	30 mg L <sup>-1</sup>	40 mg L <sup>-1</sup>	50 mg L <sup>-1</sup>
PM (g peixe <sup>-1</sup> )	$0,27 \pm 0,03b$	$0,43 \pm 0,05ab$	$0,43 \pm 0,07ab$	$0,48 \pm 0,02a$	$0,47 \pm 0,14ab$
CM (mm peixe <sup>-1</sup> )	$27,8 \pm 5,0a$	$28,1 \pm 3,9a$	$29,2 \pm 3,4a$	$28,7 \pm 4,3a$	$28,5 \pm 4,1a$

Legenda: PM: Peso médio; CM: Comprimento médio; Letras diferentes indicam diferença estatisticamente significativa

O tratamento que utilizou o anestésico na concentração de 10 mg de eugenol L<sup>-1</sup> apresentou um maior tempo médio para anestesia ( $315,1 \pm 130s$ ), em relação aos demais tratamentos, e apesar de ser possível observar uma considerável diferença em termos de valores absolutos, não apresentaram diferença estatisticamente significativa entre estes.

Em relação ao tempo de biometria e ao tempo de recuperação não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre as cinco concentrações testadas. Já a análise do tempo total do procedimento mostra o comportamento semelhante ao da anestesia, sendo a concentração de 10 mg de eugenol L<sup>-1</sup> maior que as demais, apresentando diferença estatisticamente significativa em relação aos demais.

Os resultados da cronometragem realizada nas cinco diferentes concentrações testadas

durante o experimento, assim como o resultado do teste estatístico pode ser observado na Tabela 03.

**Tabela 03.** Resultados da cronometragem, medido em segundos, do processo de anestesia, biometria, recuperação e o tempo total gasto na anestesia dos molinésias utilizados nos cinco tratamentos experimentais.

Etapas da Anestesia	Concentrações de Eugenol				
	10 mg L <sup>-1</sup>	20 mg L <sup>-1</sup>	30 mg L <sup>-1</sup>	40 mg L <sup>-1</sup>	50 mg L <sup>-1</sup>
Anestesia (s)	315,1 ± 130a	119,8 ± 25,9b	116,9 ± 33b	93,3 ± 33,7b	62,3 ± 10,2b
Biometria (s)	37,9 ± 9,8a	48,3 ± 12,7a	54,5 ± 24,0a	38,2 ± 10,5a	39,9 ± 6,9a
Recuperação (s)	92,5 ± 64,5a	74,8 ± 12,7a	91 ± 39,3a	90 ± 34,4a	96,9 ± 34,1a
Tempo Total (s)	445,5 ± 143,6a	242,9 ± 32,8b	262,4 ± 46,5b	221,5 ± 69,1b	199,1 ± 39,8b

Foi observada a mortalidade de um peixe, o que corresponde a 10% da amostra, apenas nas primeiras 24 horas nas concentrações 10, 20 e 50 mg L<sup>-1</sup>. Não foi observada mais nenhuma mortalidade durante as 96 horas de observação.

## DISCUSSÃO

A indução da anestesia deve levar de 60 a 180 segundos e a recuperação não deve ultrapassar 300 segundos, quando se considera a anestesia necessária à biometria (MARKING; MEYER, 1985; ROUBACH; GOMES, 2001 *apud* VIDAL *et al.*, 2007). Tomando estes valores como base é possível observar que o uso do eugenol na concentração de 10 mg L<sup>-1</sup> estaria com a ação anestésica muito lenta, apesar do tempo de recuperação estar dentro do recomendado. É válido salientar que durante os testes houve quatro indivíduos, que passaram mais de 300 segundos (5 minutos) para anestesia.

Pawar *et al.* (2011) elencaram o óleo de cravo como o anestésico ideal para o uso nos manejos do cavalo marinho amarelo *Hippocampus kuda*, sendo a concentração de 50 mg de eugenol L<sup>-1</sup> a mais recomendada tendo como referência os tempos de indução e recuperação.

Na Tabela 04 está exposta a síntese das melhores concentrações de eugenol observadas em experimentos com algumas espécies de peixes cultivadas no Brasil.

**Tabela 04.** Sumário com as concentrações recomendadas para uso de eugenol em diversas espécies de peixe cultivadas no Brasil.

Espécie	Peso Médio (g peixe <sup>-1</sup> )	Concentração (mg L <sup>-1</sup> )	Referência
Pacu <i>Piaractus mesopotamicus</i>	110,5 ± 21,6 g	50	Gonçalves <i>et al.</i> (2008)
Tilápia do Nilo <i>Oreochromis niloticus</i>	55,35 ± 15,68	150	Simões <i>et al.</i> (2012)
Pintado <i>Pseudoplatystoma corruscans</i>	27,76 ± 7,7	50	Vidal <i>et al.</i> (2006)
Matrinxã <i>Brycon cephalus</i>	3,31 ± 0,57	50	Vidal <i>et al.</i> (2007)
Tilápia do Nilo <i>Oreochromis niloticus</i>	5,34	75	Vidal <i>et al.</i> (2008)

Para a maior segurança dos animais anestesiados é importante que seja utilizada a menor



concentração possível para um nível de anestesia satisfatório, em relação a isto Balamurugan *et al.* (2015) atestaram que a concentração de 17,5 mg L<sup>-1</sup> de eugenol é a concentração mais segura para a anestesia do peixe palhaço *Amphiprion sebae*, pois foi observado por meio de análise histológica que esta concentração não causou danos ao delicado tecido branquial dos peixes testados.

A baixa toxicidade para os peixes, para o manipulador e para o meio ambiente, além do baixo preço do óleo de cravo são algumas das razões para a crescente utilização na aquicultura (JAVAHERY *et al.*, 2012). Corroborando com essa afirmativa, Mitjana *et al.* (2014) observaram que entre os três anestésicos por eles investigados, 2-phenoxyethanol, tricaina e óleo de cravo, para o uso em juvenis de peixe anjo *Pterophyllum scalare*, este último mostrou-se como o menos nocivo deles e economicamente acessível para aplicações em grande escala.

Considerando os resultados de tempo de indução e recuperação anestésica e a segurança do uso, por meio da ocorrência de mortalidade, é possível elencar como os melhores tratamentos os que utilizaram 30 e 40 mg de eugenol L<sup>-1</sup>. No entanto, pode-se elencar a concentração de 30 mg de eugenol L<sup>-1</sup> como a melhor entre as testadas, pois demonstrou resultados semelhantes com menor uso de anestésico.

## CONCLUSÕES

Não é indicado uso do eugenol na concentração de 10 mg L<sup>-1</sup> para a anestesia de juvenis de molinésia, pois o tempo de indução anestésica é muito longo. As demais concentrações utilizadas apresentaram resultados dentro dos padrões sugeridos pela literatura. No entanto, o uso do eugenol nas concentrações de 30 e 40 mg L<sup>-1</sup> foram as mais seguras, pois não se observou mortalidade no período de 96 horas. Recomenda-se a concentração de 30 mg de eugenol por litro para a anestesia dos juvenis de molinésia. São necessários estudos com peixes da mesma espécie de outras gramaturas e tamanhos para se conhecer a relação da dosagem ótima em relação ao peso e comprimento para molinésia.

## REFERÊNCIAS

- AFFONSO, R.S.; RENNÓ, M.N.; SLANA, G.B.C.A.; FRANÇA, T.C.C. Aspectos Químicos e Biológicos do Óleo Essencial de Cravo da Índia. *Revista Virtual de Química*. v. 4, n. 2, p. 146-161, 2012.
- BALAMURUGAN, J.; AJITH KUMAR, T. T.; PRAKASH, S.; MEENAKUMARI, B.; BALASUNDARAM, C.; HARIKRISHNAN, R. Clove extract: A potential source for stress free transport of fish, *Aquaculture* (2015), doi: 10.1016/j.aquaculture.2015.12.020
- BARTLEY, D. Responsible ornamental fisheries. *FAO Aquaculture Newsletter*, n. 24, p. 10-14,

2000.

BREDEN, F.; PTACEK, M.B.; RASHED, M.; TAPHORN, D.; FIGUEIREDO, C.A. Molecular Phylogeny of the Live-Bearing Fish Genus *Poecilia* (Cyprinodontiformes: Poeciliidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*. v. 12, n. 2, p. 95–104, 1999.

GHOLIPOUR KANANI, H.; SOLTANI, M.; MIRZARGAR, S.S. Effect of tricainemethanesulfonate (MS222), clove oil and electro-anaesthesia on respiratory burst activity in whole blood and serum alternative complement response in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), during the narcosis stage. *Fish & Shellfish Immunology*. v. 34, p. 692-696, 2013.

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 Sciences*. Maringá, v. 30, n. 3, p. 339-344, 2008.

HONCZARYK, A. INOUE, L.A.K.A. Anestesia do pirarucu por aspersão direta nas brânquias do eugenol em solução aquosa. *Ciência Rural*, Santa Maria. v.39, n.2, mar-abr, 2009

JAVAHERY, S., NEKOUBIN, H., MORADLU, A.H. Effect of anaesthesia with clove oil in fish (review). *Fish Physiol. Biochem*. v. 38, n. 6, p. 1545–1552, 2012.

KÜÇÜK, S. The effects of water type on growth, survival and condition of *Poecilia velifera*. *African Journal of Biotechnology*, v. 9, n. 5, p. 760-763, 2010.

LUCINDA, P.H.F. Family Poeciliidae. In: REIS, R.E., KULLANDER, S.O., FERRARIS, C.J. (Eds.), **Check List of the Freshwater Fishes of South and Central America**. EDIPUCRS, Porto Alegre, Brazil, pp. 555–581, 2003.

LUCINDA, P.H.F., REIS, R.E. Systematics of the subfamily Poeciliinae Bonaparte (Cyprinodontiformes: Poeciliidae), with an emphasis on the tribe Cnesterodontini Hubbs. *Neotropical Ichthyology*, v. 3, p. 1–60, 2005.

MARKING, L.L., MEYER, F.P. Are better anaesthetics needed in fisheries? *Fisheries*, v.10, p. 2-5, 1985.

MITJANA, O.; BONASTRE, C.; INSUA, D.; FALCETO, M.V.; ESTEBAN, J.; JOSA, A.; ESPINOSA, E. The efficacy and effect of repeated exposure to 2-phenoxyethanol, clove oil and tricaine methanesulphonate as anesthetic agents on juvenile Angelfish (*Pterophyllum scalare*). *Aquaculture*. v. 433, p. 491–495, 2014.

OLIVEIRA, J.R.; CARMO, J.L.; OLIVEIRA, K.K.C.; SOARES, M.C.F. Cloreto de sódio, benzocaína e óleo de cravo-da-índia na água de transporte de tilápia-do-nilo. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.38, n.7, p.1163-1169, 2009.

PAWAR, H.B; SANAYE, S.V.; SREEPADA, R.A.; HARISH, V.; SURYAVANSHI, U.; TANU; ANSARI, Z.A. Comparative efficacy of four anaesthetic agents in the yellow seahorse, *Hippocampus kuda* (Bleeker, 1852). *Aquaculture*. v. 311, p. 155–161, 2011.

PTACEK, M.B. Mating Signal Divergence, Sexual Selection, and Species Recognition in Mollies



(Poeciliidae: Poecilia: Mollienesia). In: Grier H.J.; Uribe, M.C. (Ed.) **Viviparous Fishes**. New Life Publications, Homestead, Florida, p 73-89, 2005.

HERNÁNDEZ, M.R.; BÜCKLE L.F.R. Temperature tolerance polygon of *Poecilia sphenops* Valenciennes (Pisces: Poeciliidae). *Journal of Thermal Biology*. v. 27, p. 1–5, 2002.

RIBEIRO, F.A.S.; LIMA, M.T.; FERNANDES, C.J.B.K. Panorama do mercado de organismos aquáticos ornamentais. *Boletim da Sociedade Brasileira de Limnologia*. 2010. Disponível em: <<http://www.sblimno.org.br/boletim/artigos/setembro-2010-no-382/51-artigos-de-formacao/74-panorama-do-mercado-de-organismos-aquaticos-ornamentais>>. Acesso em: 30 de abril de 2011.

ROSS, L. G.; ROSS, B. **Anaesthetic and sedative techniques for aquatic animals**. 3rd ed. Oxford: Blackwell Science, 2008. p. 240.

SAXBY, A.; ADAMSA, L.; SNELGROVE, D.; WILSON, R.W.; SLOMAN, K.A. The effect of group size on the behaviour and welfare of four fish species commonly kept in home aquaria. *Applied Animal Behaviour Science*, v. 125, p. 195–205, 2010.

SCHLUPP, I.; PARZEFALL, J.; SCHARTL, M. Biogeography of the Amazon molly, *Poecilia formosa*. *Journal of Biogeography*, v. 29, p. 1- 6, 2002.

SIMÕES, L.N.; GOMIDE, A.T.M.; ALMEIDA-VAL, V.M.F.; VAL, A.L.; GOMES, L.C. O uso do óleo de cravo como anestésico em juvenis avançados de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). *Acta Scientiarum. Animal Sciences*. Maringá, v. 34, n. 2, p. 175-181, Apr.-June, 2012

TLUSTY, M. The benefits and risks of aquacultural production for the aquarium trade. *Aquaculture*. v. 205, p. 203–219, 2002.

VIDAL, L.V.O.; ALBINATI, R.C.B.; ALBINATI, A.C.L.; MECÊDO, G.R. Utilização do eugenol como anestésico para o manejo de juvenis de Pintado (*Pseudoplatystoma corruscans*). *Acta Scientiarum. Biological Sciences*. Maringá, v. 28, n. 3, p. 275-279, Jul./Set., 2006.

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, out/dez, 2007.

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*, Brasília, v.43, n.8, p.1069-1074, ago. 2008.