

USO DO ÓLEO DE CRAVO NA SIMULAÇÃO DE TRANSPORTE DE JUVENIS DE TILÁPIA DO NILO

ANTONIO GLAYDSON LIMA MOREIRA¹, WLADIMIR RONALD LOBO FARIAS²

¹Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará (IFCE) - campus de Morada Nova

²Universidade Federal do Ceará (UFC)

<antonio.glaydson@ifce.edu.br>, <wladimir@ufc.br>

Resumo. O presente trabalho avaliou o efeito do óleo de cravo na qualidade da água e no comportamento de juvenis de tilápia do Nilo submetidos à simulação de um transporte de quatro horas em sacos plásticos, contendo 5, 10, 15 e 20 mg L⁻¹ do anestésico, com 4 repetições por tratamento. Os peixes foram colocados nos sacos contendo as diferentes dosagens. Em seguida, os sacos foram inflados com oxigênio puro e amarrados. Durante o experimento, os animais foram avaliados de acordo com os estágios de anestesia, que vão desde a sedação leve ao colapso medular. Os parâmetros físicos e químicos da água foram monitorados no tanque de aclimação e nos sacos, imediatamente após a simulação do transporte. O óleo de cravo não interferiu nos valores de oxigênio dissolvido e pH da água após as quatro horas de simulação do transporte, enquanto que os parâmetros temperatura, amônia total e condutividade elétrica, bem como o comportamento dos indivíduos, apresentaram variações significativas, dependendo da concentração do anestésico. Os animais expostos às concentrações de 5 e 10 mg L⁻¹ não apresentaram os sinais de anestesia desejados para realizar o transporte de peixes em sacos. Além disso, nessas duas concentrações foram observados os maiores valores de amônia total ao final da simulação. Na concentração de 20 mg L⁻¹ foi observada a menor concentração de amônia após a simulação, no entanto todos os peixes atingiram o estágio de colapso medular e tiveram batimentos operculares ausentes ao final do experimento. Os indivíduos expostos à concentração de 15 mg L⁻¹ atingiram o estágio de anestesia desejado, bem como apresentaram batimentos operculares mais lentos, porém estáveis. De acordo com os critérios adotados, a concentração de óleo de cravo mais indicada para o transporte de juvenis de tilápia é de 15 mg L⁻¹.

Palavras-chaves: *Oreochromis niloticus*. Estresse. Anestésico.

Abstract. This study evaluated the effect of clove oil on water quality and Nile tilapia juvenile behavior submitted to a four-hour transport simulation in plastic bags containing 5, 10, 15 and 20 mg L⁻¹ of the anesthetic with four replicates per treatment. Fish were placed in the bags containing water with the different dosages. Then the bags were inflated with pure oxygen and tied. During the experiment, the animals were evaluated according to the anesthesia stages, ranging from mild sedation to medullar collapse. The physical and chemical parameters of water were monitored in the acclimation tank and in the bags immediately after the simulation of transport. Clove oil did not affect dissolved oxygen and pH of the water after four hours of transport simulation, while the parameters temperature, total electrical conductivity and ammonia as well as the behavior of individuals, showed significant variations depending on the concentration of the anesthetic. The animals exposed to concentrations of 5 and 10 mg L⁻¹ did not show the desired anesthesia signals to perform transportation of fish in bags. Moreover, in these two concentrations the highest total ammonia values were observed at the end of the simulation. At the concentration of 20 mg L⁻¹ the lower ammonia concentration was observed after the simulation, however all the fish reached the medullar collapsed stage and the opercular beats were missed at the end of the experiment. Individuals exposed to a concentration of 15 mg L⁻¹ reached the desired anesthesia stage and the opercular beats were slower, but stable. According to the criteria adopted, the most suitable clove oil concentration for tilapia juvenile's transport is 15 mg L⁻¹.

Keywords: *Oreochromis niloticus*. Stress. Anaesthetic.

1 INTRODUÇÃO

A tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1757) pertencente da família Cichlidae é uma espécie de alto interesse comercial, sendo a espécie mais cultivada no Brasil. Seu cultivo é realizado principalmente no sistema intensivo, onde os animais passam por diversas situações estressantes (MOREIRA et al., 2011). Dentre as práticas rotineiras presentes na tilapicultura está o transporte, que se não realizado corretamente pode expor os peixes a situações adversas. A atividade física associada ao estresse no transporte pode causar impactos negativos na qualidade da carne em muitas espécies de animais, incluindo os peixes (BOSWORTH et al., 2007). Estes impactos são geralmente atribuídos ao aumento do metabolismo anaeróbico, rápido declínio do pH e aceleração da desnaturação ou degradação das proteínas do músculo (RATHGEBER et al., 1999). Estas mudanças podem resultar em uma coloração indesejável e amolecimento da carne, redução na capacidade de retenção de água e diminuição da vida de prateleira (BOSWORTH et al., 2007).

Metodologias para diminuir a interferência de estressores nas funções vitais e fisiológicas dos peixes são importantes durante o manejo. Nos últimos anos, os anestésicos surgiram como uma ferramenta importante na aquicultura no intuito de diminuir o nível de estresse e a mortalidade dos peixes (ROUBACH et al., 2005; VELISEK et al., 2005; MAMANGKEY; ACOSTA-SALMON; SOUTHGATE, 2009). O óleo de cravo tem como principal componente o eugenol (4-alil-2-metoxifenol), uma substância fenólica (MAZZAFERA, 2003) que pode ser obtida pela destilação do extrato de folhas, caules e raízes de vegetais das espécies *Eugenia caryophyllata* (BOYER et al., 2009) e *E. aromatica* (CUNHA; ROSA, 2006).

O sucesso do transporte é dependente de alguns fatores como a qualidade da água, o tamanho do peixe e a densidade de estocagem. O estresse causado pelo transporte é classificado como sendo agudo e afeta seriamente o estado fisiológico dos peixes, causando um incremento nos níveis de cortisol plasmático (BARTON; IWAMA, 1991) que é liberado pelas células de cromafina. Além disso, também ocorre o aumento da frequência cardíaca e mobilização das reservas energéticas (CUESTA; ESTEBAN; MESEGUER, 2003). Os efeitos negativos do estresse dependem da severidade e duração do agente estressor.

Segundo Colburn et al. (2008), a densidade estocada nos sacos é um fator limitante, haja vista o reduzido volume de água utilizado nos sacos para o transporte. Esta situação resulta em situações estressantes para os peixes devido a maior produção de amônia e gás carbônico na

água, como também o aumento de choques mecânicos entre os indivíduos, além de um consumo mais elevado de oxigênio dissolvido.

Desta forma, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a qualidade da água (temperatura, oxigênio dissolvido, pH, amônia total e condutividade) e o comportamento de juvenis de tilápia do Nilo, submetidos à simulação do transporte em sacos plásticos, contendo diferentes concentrações de óleo de cravo como agente antiestressor. Para determinação da concentração ideal do anestésico para o transporte, foi conferida a dosagem que resultou numa melhor qualidade da água após a simulação, além de atribuir aos animais o melhor comportamento durante e após o experimento, bem como a menor taxa de mortalidade.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Centro de Biotecnologia Aplicado à Aquicultura (CEBIAQUA) do Departamento de Engenharia de Pesca, da Universidade Federal do Ceará, no mês de maio de 2014. Os peixes utilizados foram provenientes da Estação de Piscicultura Professor Raimundo Saraiva da Costa, onde foram mantidos em um tanque de alvenaria de 5.000 L, sendo alimentados com ração comercial (32% PB) duas vezes ao dia até a saciedade aparente, durante 30 dias até atingirem comprimento médio de $8,53 \pm 1,09$ cm e peso médio de $9,97 \pm 0,92$ g, para a realização do experimento.

Durante este período, a temperatura da água permaneceu em $26,47 \pm 0,30^\circ\text{C}$, o oxigênio dissolvido em $6,15 \pm 1,12$ mg L⁻¹, o pH $7,35 \pm 0,22$, a condutividade elétrica $59,0 \pm 2,0$ μS cm⁻¹ e a concentração de amônia $0,03 \pm 0,01$ mg L⁻¹. A alimentação dos peixes foi cessada 24 horas antes do procedimento experimental.

Após terem passado pelo jejum de 24 horas, 320 peixes foram capturados aleatoriamente no tanque de alvenaria e colocados em sacos plásticos de 15 L de volume útil, com 4 L de água, contendo diferentes concentrações do anestésico. O óleo de cravo, devido sua natureza hidrofóbica, foi diluído em álcool etílico 99,8% na concentração 100 mg L⁻¹, em conformidade com a metodologia de Vidal et al. (2008). O óleo de cravo (eugenol) foi utilizado nas concentrações de 5, 10, 15 e 20 mg L⁻¹ (4 repetições, cada uma), com a estocagem de 20 peixes por saco (50 g L⁻¹).

A simulação de transporte dos animais teve duração de quatro horas. Os peixes foram colocados nos sacos plásticos já com as doses do anestésico diluídas na água, os quais foram inflados com oxigênio puro e, em seguida, amarrados com ligas de borracha. Após este procedimento, os sacos foram dispostos lado a lado, e

Tabela 1: 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	Narcose	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.

Fonte: modificado de Ross e Ross (2008).

a cada 15 minutos, foram agitados manualmente simulando a movimentação durante o transporte. Durante todo o experimento, os animais foram monitorados visualmente para avaliar o padrão comportamental, com base na descrição proposta por Ross e Ross (2008) (Tabela 1).

A partir de uma hora da simulação, com intervalo de 30 minutos entre cada verificação, foi monitorada a frequência dos batimentos operculares dos indivíduos ($n = 8$ por tratamento), durante um período de 60 segundos. Quando o momento da verificação dos batimentos operculares coincidia com o instante de agitação dos sacos, inicialmente era feito a contagem dos batimentos e observação comportamental, seguido da agitação. Além disso, foi observada a quantidade de peixes que estavam descansando no fundo dos sacos de transporte.

Após a simulação do transporte, os peixes de cada tratamento foram transferidos para caixas de polietileno de 100 L providas de água limpa e aeração para determinação do tempo de recuperação do efeito anestésico, de acordo com critérios propostos por Hikasa et al. (1986). Além disso, durante 24 horas, foram observadas eventuais mudanças no comportamento dos indivíduos e a ocorrência de mortalidade.

Os parâmetros físicos e químicos da água foram monitorados no tanque de aclimatação e imediatamente após a simulação do transporte. A temperatura, oxigênio dissolvido, pH e condutividade elétrica foram mensurados através de uma sonda modelo Hanna (HI S838), enquanto a amônia total foi determinada pelo método de Nessler (APHA, 1989), utilizando espectrofotometria.

O trabalho foi conduzido em um delineamento experimental inteiramente casualizado e os dados foram submetidos à Análise de Variância (ANOVA). Quando o valor de F indicou diferença significativa ($p < 0,05$), as médias foram comparadas pelo teste de Tukey. Os resultados estão apresentados como médias \pm desvio pa-

Tabela 2: Parâmetros físicos e químicos da água após quatro horas de simulação de transporte em sacos plásticos sob influência de diferentes concentrações de óleo de cravo.

Parâmetro	Valor inicial	Final da simulação de transporte (concentrações de óleo de cravo)			
		5 mg L ⁻¹	10 mg L ⁻¹	15 mg L ⁻¹	20 mg L ⁻¹
Temperatura					
(°C)	26,80	29,1 \pm 0,14*	28,8 \pm 0,15 ^{ab} *	28,6 \pm 0,68 ^{ab} *	28,1 \pm 0,28 ^b
O ₂ D					
(mg L ⁻¹)	6,15	16,1 \pm 0,68*	16,8 \pm 1,35*	17,2 \pm 0,96*	18,3 \pm 1,70*
pH					
	7,35	6,5 \pm 0,07*	6,5 \pm 0,08*	6,4 \pm 0,10*	6,6 \pm 0,22*
Amônia Total					
(mg L ⁻¹)	0,55	2,44 \pm 0,31*	2,70 \pm 0,56*	1,85 \pm 0,73*	1,42 \pm 0,22 ^b
Condutividade					
(μ S cm ⁻¹)	59,0	62,5 \pm 0,58*	61,8 \pm 0,96 ^{ab}	60,5 \pm 1,73 ^{ab}	60,1 \pm 0,82 ^b

*indica diferença significativa quando comparado com o valor inicial antes da simulação. Diferentes letras minúsculas nas linhas indicam diferença significativa entre os tratamentos após a simulação de transporte pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

drão e todas as análises foram realizadas pelo programa Bioestat, versão 4.0.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores médios dos parâmetros físicos e químicos da água nas unidades experimentais avaliados por tratamento imediatamente após a simulação de transporte de quatro horas encontram-se apresentados na tabela 2.

O óleo de cravo interferiu nos valores de temperatura após as quatro horas de simulação do transporte. De acordo com os resultados obtidos neste trabalho, quanto menor a concentração de óleo de cravo utilizada, maior foi a temperatura da água. Na concentração de 5 mg L⁻¹ a temperatura média atingiu 29,1 \pm 0,14 °C, sendo mais elevada ($p < 0,05$) em relação temperatura média na maior concentração (20 mg L⁻¹), que foi de 28,1 \pm 0,28 °C.

Os parâmetros oxigênio dissolvido e pH não apresentaram diferenças significativas ($p > 0,05$) entre os tratamentos após a simulação do transporte. Os elevados valores de O₂D ocorreram devido à injeção do gás nos sacos antes deles serem amarrados, indicando, possivelmente, uma supersaturação deste gás na água. Esta prática é muito comum e observada no transporte de peixes vivos em sistemas fechados. Segundo Berka (1986), o peso dos animais e a temperatura da água são os dois fatores mais importantes relacionados ao consumo de oxigênio durante o transporte de peixes vivos, de tal forma que a temperatura influencia fortemente o consumo do oxigênio, pois quanto maior a temperatura,

maior será a demanda de oxigênio. Entretanto, no presente trabalho, o peso dos animais e a temperatura da água não influenciaram no consumo do oxigênio.

Os valores de pH da água de todos os tratamentos foram significativamente menores (6,4 a 6,6) em relação ao pH da água do tanque de aclimatação que foi 7,35. Este decréscimo está relacionado com a produção de dióxido de carbono devido à respiração dos peixes, que leva a formação de ácido carbônico após sua dissociação em íons H^+ e HCO_3^- , acidificando ligeiramente a água (BOYD, 1982). A concentração de amônia total, após as quatro horas de simulação de transporte, foi significativamente superior ($p < 0,05$) àquela observada no início do experimento ($0,55 \text{ mg L}^{-1}$) em todos os tratamentos, variando de 1,42 a $2,70 \text{ mg L}^{-1}$. A concentração de nitrogênio amoniacal total na concentração de 20 mg L^{-1} foi significativamente inferior ($p < 0,05$) que as demais concentrações.

Os peixes expostos às duas menores concentrações do anestésico aparentaram não estarem sedados, enquanto os animais expostos à maior dosagem de óleo de cravo apresentavam-se claramente anestesiados. Desta forma, os peixes expostos às menores concentrações mantinham-se com natação e metabolismo mais ativos, resultando em uma maior excreção de compostos nitrogenados. Estes resultados estão de acordo com os encontrados por Park et al. (2009) que observaram uma maior redução da excreção de amônia total na maior concentração de cloridrato de lidocaína testada, ao simularem o transporte de *Pleuronectes americanus* em sacos plásticos durante cinco horas.

A condutividade elétrica não apresentou grande variação entre os tratamentos, alcançando o valor máximo de $62,5 \pm 0,58 \mu\text{S cm}^{-1}$ no tratamento com 5 mg L^{-1} de óleo de cravo, que apenas diferiu significativamente do valor de $60,1 \pm 0,82 \mu\text{S cm}^{-1}$, obtido na maior na concentração de 20 mg L^{-1} . Segundo King (2009), mudanças significativas na qualidade da água ocorrem durante o transporte, podendo afetar a atividade respiratória dos peixes e desencadear o estresse fisiológico. De acordo com os resultados do presente trabalho, podemos inferir que as concentrações de 5 e 10 mg L^{-1} de óleo de cravo não foram capazes de minimizar os impactos causados pelo transporte, principalmente com relação à excreção de amônia.

Conforme demonstra a Tabela 3, as diferentes concentrações de óleo de cravo alteraram o comportamento dos indivíduos. Após 60 minutos de simulação de transporte em sacos plásticos, todos os peixes expostos ao óleo de cravo nas concentrações de 5 e 10 mg L^{-1} encontravam-se no estágio 1 de anestesia, enquanto 50% dos indivíduos dos sacos que continham 15 mg

Tabela 3: Resultados da ANOVA de dois fatores (posição e estação) para riqueza de espécies de moluscos.

Concentração (mg L^{-1})	Tempo de simulação de transporte (minutos)			
	60	120	180	240
	Estágios anestésicos*			
5	I (100%)	I (100%)	I (100%)	I (100%)
10	I (100%)	II (100%)	II (100%)	II (100%)
15	I (50%)	III (40%)	IV (100%)	IV (100%)
	II (50%)	IV (60%)		
20	III (100%)	IV (50%)	V (100%)	VI (100%)
		V (50%)		

* I = sedação leve; II = sedação profunda; III = narcose; IV = anestesia profunda; V = anestesia cirúrgica; VI = colapso medular

L^{-1} estavam no estágio 1 e os outros 50% no estágio 2.

(OLIVEIRA et al., 2009) submeteram alevinos de tilápia do Nilo ao transporte na concentração de 5 mg L^{-1} do mesmo anestésico e observaram que 40% dos animais encontravam-se no estágio 1 de anestesia, resultado semelhante ao registrado no nosso trabalho. Neste mesmo período de tempo, todos os espécimes expostos à concentração de 20 mg L^{-1} não demonstravam equilíbrio e apresentavam o batimento opercular lento, porém regular, caracterizando o estágio 3 de anestesia.

Na metade do tempo de simulação de transporte, ou seja, duas horas, todos os peixes do tratamento com 5 mg L^{-1} de óleo de cravo continuaram no mesmo estágio, enquanto todos os animais expostos à concentração de 10 mg L^{-1} encontravam-se no estágio 2. Para esses dois tratamentos não foi observado mais nenhuma mudança em relação ao estágio de anestesia até o final da simulação de transporte. Segundo Akbari et al. (2010), a concentração anestésica desejável para o transporte de peixes deve produzir uma leve sedação, ou seja, não ultrapassar o estágio 1. Em contrapartida, Inoue, Hackbarth e Moraes (2010) afirmaram que o estágio 1 não é suficiente para promover reduções nos parâmetros metabólicos que evidenciam o estresse, o que também foi evidenciado no presente trabalho.

Depois de três horas simulando o transporte, todos os peixes expostos à concentração de 15 mg L^{-1} de óleo de cravo encontravam-se no estágio 4 de anestesia, permanecendo assim até o fim do experimento, en-

quanto 100% dos peixes submetidos ao tratamento com 20 mg L⁻¹, encontravam-se no estágio 5. Entretanto, ao final do desafio imposto, os animais entraram aparentemente no estágio de colapso medular e apresentavam total ausência batimento opercular.

Após o período experimental, não foi observada nenhuma mortalidade aos peixes expostos às concentrações de 5, 10 e 15 mg L⁻¹ de óleo de cravo, bem como 24 horas após o procedimento, enquanto 48% dos peixes expostos à maior concentração de óleo de cravo, 20 mg L⁻¹, não sobreviveram. Os peixes submetidos às concentrações de 5 e 10 mg L⁻¹ apresentaram capacidade normal de nado imediatamente após terem sido colocados nas caixas de recuperação. Moreira, Silva e Palma (2010) submeteram adultos de tilápia do Nilo à anestesia com o eugenol e afirmaram que os animais só necessitavam de tempo de recuperação se atingissem o estágio de anestesia profunda.

Os juvenis de tilápia expostos ao tratamento de 15 mg L⁻¹ retornaram parcialmente a natação após 20 minutos e, somente após 60 minutos, todos os peixes estavam totalmente recuperados. Os animais sobreviventes submetidos ao tratamento com 20 mg L⁻¹ necessitaram de 80 minutos para voltar a nadar ativamente.

Para detectar se os animais estão passando por situações estressantes, indicadores fisiológicos como os níveis de cortisol e glicose sanguíneos (MARTÍNEZ-PORCHAS; MATÍNEZ-CÓRDOVA; RAMOS-ENRIQUEZ, 2009) tem sido utilizados com sucesso e bem descritos na literatura, no entanto, a necessidade da coleta de sangue representa um obstáculo. Na impossibilidade da coleta de material sanguíneo, o comportamento dos animais pode ser utilizado como indicativo de situações estressantes. Segundo Vera et al. (2010), o desenvolvimento de métodos precisos para quantificar mudanças comportamentais nos peixes é de grande importância na ordem de caracterizar efeitos subletais causados pela exposição a substâncias xenobióticas (antibióticos, vacinas, anestésicos, etc.). Dentre as características comportamentais estão as taxas de batimento opercular (ventilação) e da nadadeira peitoral. A tabela 4 sumariza os dados referentes à frequência de batimento opercular dos juvenis de tilápia em sacos plásticos, durante quatro horas de simulação de transporte sob diferentes concentrações de óleo de cravo.

Na concentração de 5 mg L⁻¹ de óleo de cravo, a taxa de ventilação dos juvenis de tilápia foi semelhante ($p > 0,05$) entre 60 e 210 minutos após o início da simulação de transporte, variando entre $78,1 \pm 11,6$ a $88,9 \pm 8,3$ batimentos por minuto (bpm). Uma exceção foi o valor registrado aos 180 minutos após o início da

Tabela 4: Frequência de batimento opercular (batimentos minuto⁻¹) durante a simulação de transporte de juvenis de tilápia do Nilo em sacos plásticos contendo diferentes concentrações de óleo de cravo.

	5 mg L ⁻¹	10 mg L ⁻¹	15 mg L ⁻¹	20 mg L ⁻¹
60 min	85,8 ± 6,4 ^{abA}	79,1 ± 14,0 ^{aAB}	88,4 ± 4,1 ^{aA}	65,5 ± 12,6 ^{aB}
90 min	86,2 ± 7,3 ^{abA}	81,8 ± 12,1 ^{aAB}	70,2 ± 9,6 ^{bdBC}	55,9 ± 9,6 ^{abC}
120 min	88,9 ± 8,3 ^{abA}	81,2 ± 7,5 ^{aA}	85,6 ± 6,5 ^{acA}	63,0 ± 9,5 ^{aB}
150 min	87,0 ± 7,7 ^{abA}	84,2 ± 6,5 ^{aA}	85,0 ± 5,9 ^{acA}	49,0 ± 7,6 ^{bB}
180 min	94,8 ± 6,6 ^{bA}	102,0 ± 5,5 ^{bA}	80,1 ± 3,7 ^{bcB}	49,9 ± 6,5 ^{bC}
210 min	78,1 ± 11,6 ^{acA}	83,8 ± 8,2 ^{aA}	66,0 ± 6,7 ^{dB}	44,5 ± 6,4 ^{bC}
240 min	71,5 ± 4,6 ^{cAB}	73,2 ± 11,7 ^{aA}	61,4 ± 6,5 ^{dB}	*

Letras minúsculas e maiúsculas diferentes, nas colunas e linhas, respectivamente, diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). *Nenhum peixe apresentava batimento opercular aparente.

simulação, que registrou $94,8 \pm 6,6$ bpm, diferindo significativamente ao valor alcançado 210 minutos após o início.

Moreira, Silva e Palma (2010) utilizaram doses mais elevadas do mesmo anestésico que as utilizadas no presente trabalho e registraram valores de movimento opercular em adultos de tilápia do Nilo bem inferiores, variando entre 44,9 a 53,4 bpm. Esses resultados mostraram que a concentração de 5 mg L⁻¹ não foi suficiente para acalmar os animais durante o período experimental. Somente quatro horas após o início da simulação de transporte que a taxa de ventilação, $71,5 \pm 4,6$ bpm, alcançou valor menor estatisticamente em relação ao registrado no primeiro momento de observação, que foi aos 60 minutos após o início da simulação.

A concentração de 10 mg L⁻¹ causou nos peixes um comportamento bem semelhante ao observado na dosagem de 5 mg L⁻¹, com a taxa de ventilação aumentando consideravelmente a cada momento de amostragem até 210 minutos, com o máximo registrado 3 horas depois de iniciada a simulação, apresentando em média $102,0 \pm 5,5$ bpm, o maior valor observado neste trabalho. Além disso, embora os movimentos operculares registrados na última amostragem ($73,2 \pm 11,7$ bpm) tenham alcançado valores menores em relação a 60 minutos após o início da simulação, não houve diferença significativa entre eles.

Técnicas não invasivas, como a quantificação da taxa de ventilação opercular, podem ser utilizadas para avaliar parcialmente o estresse dos peixes em algumas situações quando não seja possível a retirada de sangue dos animais. Segundo Barreto e Volpato (2004), a taxa de ventilação é uma resposta muito sensível aos agentes estressantes, mas de uso limitado como único indicador de estresse, pois não fornece respostas diretamente proporcionais à altura do estressor. Desta forma, o comportamento apresentado pelos peixes expostos à concentração de 10 mg L⁻¹ pode indicar que esta con-

centração de óleo de cravo também não foi suficiente para diminuir o estresse causado pelo manejo.

Na concentração de 15 mg L⁻¹ houve uma redução significativa ($p < 0,05$) dos batimentos operculares logo entre os dois primeiros momentos de amostragens, registrando $88,4 \pm 4,1$ e $70,2 \pm 9,6$ bpm, respectivamente. Em seguida, embora tenha ocorrido um aumento na taxa de batimento opercular, os valores registrados com 120 e 150 minutos após o início da simulação de transporte, foram menores ($p > 0,05$) que o apresentado no primeiro momento de amostragem. E, finalmente, nas três últimas amostragens, foi observada uma redução gradativa na frequência opercular dos animais, sendo os valores registrados aos 210 e 240 minutos após o início da simulação, significativamente menores que todas as demais amostragens, apresentando valores de $66,0 \pm 6,7$ e $61,4 \pm 6,5$ bpm, respectivamente. Assim, a concentração de 15 mg L⁻¹ foi a que apresentou os melhores resultados ao avaliar a taxa de batimento opercular dos juvenis de tilápia.

Barreto e Volpato (2006) avaliaram o estresse em adultos de tilápia do Nilo submetidos a três diferentes agentes estressores (confinamento, eletrochoque e estresse social) e registraram valores basais variando entre 60 e 70 bpm antes dos desafios impostos aos animais. Esses dados revelam, possivelmente, que a taxa normal de batimento opercular para esta espécie oscile dentro deste intervalo. De acordo com as observações realizadas neste trabalho, os batimentos operculares foram decrescendo gradativamente até atingir estes valores, mesmo quando submetidos à simulação de transporte.

Os animais submetidos à simulação de transporte na maior dosagem de óleo de cravo apresentaram os menores valores de frequência opercular em todas as amostragens em relação aos demais tratamentos. Com 60 minutos após o início da simulação, os animais apresentaram $65,5 \pm 12,6$ bpm, não diferindo estatisticamente da frequência opercular dos animais amostrados com 90 e 120 minutos depois. Em seguida, os juvenis apresentaram batimento opercular muito lento, com média de $49,0 \pm 7,6$, $49,9 \pm 6,5$ e $44,5 \pm 6,4$ bpm nas observações realizadas aos 150, 180 e 210 minutos de simulação, respectivamente, diferindo significativamente dos minutos anteriores.

Os resultados obtidos no presente trabalho sugerem que na concentração de 20 mg L⁻¹ de óleo de cravo os animais ultrapassaram o estágio de anestesia desejado para o transporte, comprometendo a utilização desta dose para tal fim. Ao final da simulação, a maioria dos peixes não apresentava mais batimento opercular, enquanto a minoria apresentava batimentos operculares

quase imperceptíveis. De acordo com Mylonas et al. (2005), quando o peixe se encontra neste estágio pode haver graves consequências e é necessário transferir o animal o quanto antes para água limpa, pois o não retorno do tônus muscular e dos movimentos operculares, pode levá-lo eventualmente a morte.

4 CONCLUSÕES

Conforme o exposto, as concentrações de 5 e 10 mg L⁻¹ não são indicadas para a realização de transporte, pois além de não promover a anestesia desejada, também não foram capazes de minimizar os problemas com a qualidade da água. Por outro lado, apesar do tratamento utilizando 20 mg L⁻¹ ter diminuído a excreção de amônia e de sais dos peixes para a água, essa dosagem fez com os peixes ultrapassassem o estágio de anestesia desejado, culminando no colapso medular dos animais e, conseqüentemente, elevada taxa de mortalidade. Desta forma, de acordo com os critérios adotados, a concentração de óleo de cravo mais indicada para o transporte de juvenis de tilápia é de 15 mg L⁻¹.

REFERÊNCIAS

- AKBARI, S.; KHOSHOD, M. J.; RAJAIAN, H.; AFSHARNASAB, M. The use of eugenol as an anesthetic in transportation of with indian shrimps (*Penaeus monodon*) post larvae. *turkish journal of fisheries and aquatic sciences*. *Sohrab Akbari, Mohammad J. Khoshnod, Hamid Rajaian, Mohammad Afsharnasab*, v. 10, p. 423 – 429, 2010.
- APHA. *Standard methods for the examination of water and wastewater*. 17. ed. Washington: AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION, 1989.
- BARRETO, R. E.; VOLPATO, G. L. Caution for using ventilator frequency as an indicator of stress in fish. *Behavioural Processes*, v. 66, p. 43 – 51, 2004.
- _____. Ventilatory frequency of Nile tilapia subjected to different stressors. *Journal of Experimental Animal Science*, v. 43, n. 3, p. 189 – 196, 2006. ISSN 0939-8600. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0939860006000058>>.
- BARTON, B. A.; IWAMA, G. K. Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of corticosteroids. *Annual Review of Fish Diseases*, v. 1, p. 3 – 26, 1991. ISSN 0959-8030. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S095980309190019G>>.

- BERKA, R. The transport of live fish. a review. *EIFAC Technical Paper 48*, 1986. 52 p. <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1558787808001780>>.
- BOSWORTH, B. G. et al. Effects of rested-harvest using the anesthetic aqui-stm on channel catfish, *Ictalurus punctatus*, physiology and fillet quality. *Aquaculture*, v. 262, p. 302 – 318, 2007.
- BOYD, C. E. *Water Quality Management for Ponds Fish Culture*. Amsterdam: Elsevier, 1982. 318 p.
- BOYER, S.; WHITE, J.; STIER, A.; OSENBURG, C. Effects of the fish anesthetic, clove oil (eugenol), on coral health and growth. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, v. 369, n. 1, p. 53 – 57, 2009. ISSN 0022-0981. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S002209810800542X>>.
- COLBURN, H. R.; WALKER, A. B.; BERLINSKY, D. L.; NARDI, G. C. Factors affecting survival of cobia, *rachycentron canadum*, during simulated transport. *Journal of the World Aquaculture Society*, Blackwell Publishing Inc, v. 39, n. 5, p. 678–683, 2008. ISSN 1749-7345. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1111/j.1749-7345.2008.00205.x>>.
- CUESTA, A.; ESTEBAN, M. A.; MESEGUER, J. Effects of different stressor agents on gilthead seabream natural cytotoxic activity. *Fish & Shellfish Immunology*, v. 15, p. 433 – 441, 2003.
- CUNHA, F. E. A.; ROSA, I. L. Anaesthetic effects of clove oil on seven species of tropical reef teleosts. *Journal of Fish Biology*, Blackwell Publishing Ltd, v. 69, n. 5, p. 1504–1512, 2006. ISSN 1095-8649. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1111/j.1095-8649.2006.01213.x>>.
- 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.
- INOUE, L. A. K. A.; HACKBARTH, A.; MORAES, G. Benzocaína sobre respostas ao estresse do matrinxã submetido ao transporte em sacos plásticos. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, v. 11, n. 3, p. 909 – 918, 2010.
- KING, H. R. Fish transport in the aquaculture sector: An overview of the road transport of atlantic salmon in tasmania. *Journal of Veterinary Behavior: Clinical Applications and Research*, v. 4, n. 4, p. 163 – 168, 2009. ISSN 1558-7878. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1558787808001780>>.
- MAMANGKEY, N. G. F.; ACOSTA-SALMON, H.; SOUTHGATE, P. C. Use of anaesthetics with the silver-lip pearl oyster, *pinctada maxima* (jameson). *Aquaculture*, v. 288, n. 3 - 4, p. 280 – 284, 2009. ISSN 0044-8486. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0044848608009332>>.
- MARTÍNEZ-PORCHAS, M.; MATÍNEZ-CÓRDOVA I. R.; RAMOS-ENRIQUEZ, R. Cortisol and glucose: Reliable indicators of fish stress? *Pan-American Journal of Aquatic Sciences*, v. 4, n. 2, p. 158 – 178, 2009.
- MAZZAFERA, P. Efeito alelopático do extrato alcoólico do cravo-da-índia e eugenol. *Brazilian Journal of Botany*, scielo, v. 26, p. 231 – 238, 06 2003. ISSN 0100-8404. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-84042003000200011&nrm=iso>.
- MOREIRA, A.; SILVA, R.; PALMA, M. Análise de gerenciamento de tempo aplicado a um projeto de petróleo. *Revista de Gestão e Projetos - GeP*, v. 1, n. 2, p. 128 – 146, jul./dez. 2010.
- MOREIRA, A. G. L.; TEIXEIRA, E. G.; MOREIRA, R. L.; FARIAS, W. R. L. Glicose plasmática em juvenis de tilápia do nilo anestesiados com óleo de cravo. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, v. 12, n. 3, p. 794 – 804, 2011.
- MYLONAS, C. C.; CARDINALETTI, G.; SIGELAKI, I.; POLZONETTI-MAGNI, A. Comparative efficacy of clove oil and 2-phenoxyethanol as anesthetics in the aquaculture of european sea bass (*dicentrarchus labrax*) and gilthead sea bream (*sparus aurata*) at different temperatures. *Aquaculture*, v. 246, n. 1 - 4, p. 467 – 481, 2005. ISSN 0044-8486. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0044848605001316>>.
- OLIVEIRA, J. R.; CARMO, J. L. d.; OLIVEIRA, K. K. C.; SOARES, M. d. C. F. Cloreto de sódio, benzocaína e óleo de cravo-da-índia na água de transporte de tilápia-do-nilo. *Revista Brasileira de Zootecnia*, scielo, v. 38, p. 1163 – 1169, 07 2009. ISSN 1516-3598. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-35982009000700001&nrm=iso>.
- PARK, I. et al. 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. ISSN 0044-8486. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0044848609004608>>.

RATHGEBER, B. M.; PATO, M. D.; BOLES, J. A.; SHAND, P. J. Rapid post-mortem glycolysis and delay chilling of turkey carcasses cause alterations to protein extractability and degradation of breast muscle proteins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 47, n. 7, p. 2529–2536, 1999. PMID: 10552522. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1021/jf981272c>>.

ROSS, L. G.; ROSS, B. *Anaesthetic and sedative techniques for aquatic animals*. 3. ed. Oxford: Blackwell Science, 2008. 236 p.

ROUBACH, R.; GOMES, L. C.; FONSECA, F. A. L.; VAL, A. L. Eugenol as an efficacious anaesthetic for tambaqui, colossoma macropomum (cuvier). *Aquaculture Research*, Blackwell Science Ltd, v. 36, n. 11, p. 1056–1061, 2005. ISSN 1365-2109. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2109.2005.01319.x>>.

VELISEK, J.; SVOBODOVA, Z.; PIACKOVA, V.; GROCH, L.; NEPEJHALOVA, L. Effects of clove oil anaesthesia on common carp (cyprinus carpio l.). *Veterinarni Medicina*, v. 50, n. 6, p. 269 – 275, 2005.

VERA, L.; ROS-SÁNCHEZ, G.; GARCÍA-MATEOS, G.; SÁNCHEZ-VÁZQUEZ, F. MS-222 toxicity in juvenile seabream correlates with diurnal activity, as measured by a novel video-tracking method. *Aquaculture*, v. 307, n. 1 - 2, p. 29 – 34, 2010. ISSN 0044-8486. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0044848610003935>>.

VIDAL, L. V. O. et al. Eugenol como anestésico para a tilápia-do-nilo. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, scielo, v. 43, p. 1069 – 1074, 08 2008. ISSN 0100-204X. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-204X2008000800017&nrm=iso>.