

Utilização do eugenol como anestésico para o manejo de juvenis de Pintado (*Pseudoplatystoma corruscans*)

Luiz Vítor Oliveira Vidal*, Ricardo Castelo Branco Albinati, Ana Catarina Luscher Albinati e Gustavo Rodamilans de Mecêdo

Laboratório de Aqüicultura e Sanidade de Organismos Aquáticos, Escola Medicina Veterinária, Universidade Federal de Bahia, Av. Ademar de Barros, 500, 40170-110, Salvador, Bahia, Brasil. Autor para correspondência e-mail: luiz_vidal@hotmail.com

RESUMO. Neste trabalho, foi avaliada a eficiência do eugenol como anestésico em juvenis de pintado (*Pseudoplatystoma corruscans*) através de ensaios. No primeiro, os peixes (n=6) foram individualmente expostos a concentrações de 25, 50, 75, 100 mg L⁻¹ de eugenol durante 10 minutos e os parâmetros de observação estabelecidos foram: perda de equilíbrio, efeito calmante e redução do movimento opercular. No segundo ensaio, foram utilizadas as concentrações de 50, 75, 100 mg L⁻¹ de eugenol, em que os animais foram mantidos na água com anestésico até atingirem o estágio IV de anestesia: perda total de equilíbrio, do tônus muscular e redução dos movimentos operculares. A recuperação foi conduzida em um aquário, contendo 10 litros de água livre de anestésico, com aeração constante. Após os dois ensaios, foi constatada a eficiência do eugenol como substância anestésica em juvenis de pintado, sendo a concentração de 50 mg L⁻¹ considerada a mais adequada para procedimentos usuais no manejo desses animais em piscicultura.

Palavras-chave: piscicultura, manejo, anestésico.

ABSTRACT. The use of eugenol as an anaesthetic for the handling of Pintado juveniles (*Pseudoplatystoma corruscans*). In this work the efficacy of eugenol as an anaesthetic in Pintado juveniles (*Pseudoplatystoma corruscans*) was evaluated by two experimental assays. In the first one, the animals (n=6) were exposed for 10 minutes to four concentrations of eugenol (25; 50; 75; 100 mg L⁻¹). The observed behavioral patterns were: loss of equilibrium, sedative effect and reduction of opercular movement. In the second assay, the concentrations of 50; 75; 100 mg L⁻¹ of eugenol were tested. The animals were maintained in the anaesthetic bath until they reached the stage of anaesthesia IV: total loss of equilibrium, muscle tonus and reduction of opercular movement. The recovery was conducted in an aquarium containing 10 liters of anaesthetic free water, with constant aeration. The efficacy of clove oil as an anaesthetics for Pintado juveniles were demonstrated after the assays and the 50 mg L⁻¹ concentration was defined as the most adequate to usual proceedings in the handling of these animals.

Key words: aquaculture, handling, anaesthetic.

Introdução

Os peixes são facilmente estressados durante o manejo e transporte (Coyle *et al.*, 2005) e, uma vez estressados, ficam vulneráveis a machucaduras e doenças. Substâncias anestésicas são freqüentemente utilizadas para reduzir a hipermotilidade, que é uma fonte considerável de machucaduras durante procedimentos de manejo e/ou transporte, aumentando a susceptibilidade dos animais a patógenos e a doenças infecciosas (Inoue *et al.*, 2003).

As substâncias anestésicas mais utilizadas são tricaína metano sulfonato (MS-222), a quinaldina e o 2-fenoxietanol. No entanto, são substâncias caras, apresentam efeitos adversos, como irritabilidade nos animais e efeitos deletérios nos manuseadores

(Roubach e Gomes, 2001).

O chamado "óleo-de-cravo" é um produto vegetal muito conhecido, que já teve mais aplicações do que hoje na medicina popular (Lapemm, 2005). É resultado da destilação das folhas, flores (incluindo talos) das árvores de cravo (*Eugenia aromatica*) sendo a substância ativa o eugenol, com concentração que varia de 70% a 90% da composição total do óleo essencial do cravo (Keene *et al.*, 1998).

Os estudos sobre a utilização do óleo de cravo como anestésico em aqüicultura, surgiram da necessidade de se encontrar novas substâncias eficazes, seguras e de baixo custo (Roubach *et al.*, 2005).

Vários autores já demonstraram a eficiência do anestésico, em diversas espécies de regiões e climas

diferentes: Salmão do Atlântico (Iversen et al., 2003); Truta arco-íris (Keene et al., 1998; Valisek et al., 2005a); Bagre do canal (Waterstrat, 1999); Matrinxã (Inoue et al., 2003); Paulistinha (Grush et al., 2004); Carpa comum (Valisek et al., 2005b); Tambaqui (Roubach et al., 2005); Surubim (Vidal et al., 2005); Jundiá (Cunha et al., 2006) e Robalo-Flecha (Souza Junior e Alves Junior, 2006). Ainda Wagner et al. (2003) relataram vantagens do uso eugenol quando comparado a outros anestésicos.

O pintado (*Pseudoplatystoma coruscans*), membro da ordem dos Siluriformes, que inclui os chamados peixes de couro, possui como principal característica externa a ausência de escamas sobre o corpo, revestido apenas por uma pele espessa, ou coberto total ou parcialmente por placas ósseas. Esses peixes apresentam barbilhões, em geral um par maxilar e dois pares mentonianos e, freqüentemente, o primeiro raio da nadadeira dorsal e das peitorais se constitui de um acúleo forte e pungente (Tavares, 1997). Está entre as espécies carnívoras nativas de grande potencial para aquicultura, destacando-se pela esportividade e grande aceitação da carne no mercado nacional. Contudo, faltam estudos a respeito do manejo desta espécie, que se mostra bastante susceptível ao estresse do manuseio que, em alguns casos, pode provocar grande mortalidade (Machado e Carratore, 1999).

O objetivo deste trabalho é avaliar a eficiência da utilização do eugenol como substância anestésica para juvenis de pintado, a partir da influência das concentrações do anestésico na indução e recuperação dos animais, da observação de possíveis efeitos adversos após a utilização do mesmo, buscando, dessa forma, determinar uma concentração segura para o manejo dos animais e estabelecer um protocolo de uso prático no campo.

Material e métodos

Foram utilizados 54 juvenis de Pintado *Pseudoplatystoma coruscans*, com peso médio de $27,76 \pm 7,7$ g, obtidos na Estação Experimental Joanes II, da empresa Bahia Pesca S.A. Os ensaios experimentais foram realizados nas instalações do setor de Aquicultura da Escola de Medicina Veterinária da UFBA. Os animais foram aclimatados durante 8 dias em tanques de 700 litros de água, com aeração constante e fornecimento de exemplares selvagens de Guppy (*Poecilia reticulata*) como alimento natural.

Foram avaliados os seguintes parâmetros físico-químicos da água: oxigênio $6,7 \pm 0,2$; temperatura $24 \pm 0,1^\circ\text{C}$.

Ensaio nº 1

Para a indução anestésica, foi utilizado um sistema estático com capacidade de 20 litros, contendo 5 litros de água, onde se diluiu o anestésico, nas concentrações estabelecidas para o teste. A aeração foi mantida constante durante todo o ensaio e a água foi renovada a cada concentração testada. Para cada tratamento, foram utilizados seis juvenis ($n=6$), escolhidos aleatoriamente e submetidos, um a cada vez, às concentrações de 25, 50, 75 e 100 mg L⁻¹ de eugenol, durante 10 minutos (Waterstrat, 1999). Os parâmetros observados foram: perda de equilíbrio, efeito calmante e redução do movimento opercular, adaptado de Keene et al. (1998). Após 10 minutos de exposição ao anestésico, os animais foram retirados da água, pesados e medidos (fazendo-se uma simulação de trabalho de biometria realizado na prática do cultivo), sendo em seguida colocados em outro aquário, contendo 10 litros de água, com aeração constante e sem anestésico, para avaliação do tempo de recuperação dos peixes.

No aquário de recuperação, os peixes foram colocados com o ventre voltado para o lado e a retomada da posição normal foi utilizada como parâmetro de avaliação da recuperação. Outro parâmetro observado foi o reflexo de fuga à captura, quando, após retornarem à posição normal, os animais eram estimulados com um puçá e a reação era considerada como indicativo do retorno do reflexo. Após o restabelecimento dos peixes no aquário, os animais foram reconduzidos às caixas em que foram aclimatados (700 litros de água) onde foram mantidos com aeração constante e alimentação natural durante 96 horas para monitoramento da mortalidade.

Ensaio nº 2

Neste segundo ensaio, foram utilizadas as concentrações de 50, 75 e 100 mg L⁻¹ de eugenol, porém os animais foram mantidos na água com anestésico até atingirem o estágio IV (Tabela 1), sendo a seguir retirados do aquário com o anestésico e colocados no aquário de recuperação.

Por serem peixes que naturalmente procuram o fundo do aquário e ficam imóveis, dois critérios foram utilizados na identificação do estágio anestésico: a rotação do peixe com exposição do ventre ou a ausência de reação a estímulos externos. Os parâmetros de recuperação foram os mesmos adotados no primeiro ensaio, assim como o procedimento realizado para a observação de mortalidade posterior aos trabalhos.

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	Narcorese	Perda parcial do tônus muscular; natação errática, aumento dos movimentos operculares; reativos apenas à 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

Modificado de Ross e Ross (1999).

Nos dois experimentos, um grupo controle foi manejado, sem a utilização do óleo de cravo e, posteriormente, colocado em um dos tanques de observação, durante o mesmo período que àqueles que foram anestesiados.

O Eugenol® (Biodinâmica) foi obtido em uma loja de produtos odontológicos e, devido à sua natureza oleosa, foi preparada uma solução estoque na proporção de 1 g 10 mL⁻¹ de álcool etílico P.A. 95%.

Avaliação dos dados

Para a análise estatística de cada parâmetro analisado, a média dos valores encontrados, em cada ensaio, foi comparada através do teste de análise de variância (ANOVA critério único) e, com a indicação de valores significativos ao nível de $p < 0,05$ para identificação das diferenças entre as concentrações, recorreu-se ao teste Student-Newman-Keuls (SNK), para a comparação das médias de cada concentração de anestésico utilizadas. Todos os procedimentos de análise utilizaram o programa estatístico PRIMER.

Resultados e discussão

Nos dois ensaios, os peixes introduzidos no aquário com o anestésico inicialmente apresentaram irritação, evidenciada pela rápida movimentação no aquário, demonstrando um comportamento de tosse e reflexo de regurgitação.

No primeiro experimento, observou-se que todos os animais perderam o equilíbrio em todas as concentrações, sendo esse parâmetro definido como o momento em que o animal começava a pender o ventre para um dos lados, podendo ou não apresentar movimentação do corpo. Alguns juvenis ainda se mostravam bastante agitados (comportamento observado por meio dos movimentos respiratórios) até o momento da perda total de equilíbrio. A Tabela 2

apresenta os dados obtidos durante a indução e recuperação dos animais no experimento 1.

Tabela 2. Respostas dos juvenis de *Pseudoplatystoma corruscans* a várias concentrações de eugenol.

Concentração mg L ⁻¹	Perda de equilíbrio	Efeito calmante	R.M.O.	Posição normal	Reação de fuga	Sobrevivência %
25	2:05 a	2:07 a	10:00*	1:36 a	3:36 a	100
50	0:59 b	1:27 b	2:32 a	3:01 a	4:14 a	100
75	0:46 b	1:14 b	1:27 b	9:05 a	10:59 a	100
100	0:32 b	0:37 c	0:42 b	18:16 b	19:19 b	83,3

Médias seguidas das mesmas letras, na mesma coluna, não diferem entre si ($p > 0,05$) utilizando o teste SNK; R.M.O. – Redução dos movimentos operculares; * Não houve redução dos movimentos operculares após 10 minutos de exposição ao anestésico.

Como pode ser visualizado na Tabela 2, nesse ensaio foi observado que a partir da concentração de 50 mg L⁻¹ houve uma significativa diminuição no tempo necessário para a indução da perda de equilíbrio (0,59 segundos). Alguns peixes apresentaram natação errática até o momento em que perdiam o tônus muscular. Esses animais ficavam com o ventre voltado para cima, o que evidenciava a ação do eugenol. Outros peixes apenas tomavam suas posições características e a ação do anestésico era observada através da não resposta a estímulos externos. O efeito calmante, momento em que o animal diminuía os movimentos respiratórios, exacerbados pelo momento em que entravam em contato com o anestésico, também foi significativamente menor a partir da concentração de 50 mg L⁻¹ (1,27 minutos), tornando-se ainda mais reduzido ($p < 0,05$) na concentração de 100 mg L⁻¹. Não foi observada diminuição dos movimentos operculares com 25 mg L⁻¹.

Ainda no primeiro experimento, na fase de recuperação, os tempos de retorno ao posicionamento normal e da reação à captura não apresentaram diferenças estatísticas ($p > 0,05$) até a concentração de 75 mg L⁻¹, o que só foi observado na concentração de 100 mg L⁻¹. Os animais que precisaram de mais tempo para o retorno à posição normal tiveram diminuídos os intervalos entre esse estágio e o retorno do reflexo de fuga e se apresentaram mais ativos no momento em que foram recolocados nos tanques de aclimação.

No segundo experimento, todos os animais atingiram o estágio anestésico IV em menos de 1 minuto, sendo significativamente menor o tempo necessário à indução na concentração de 100 mg L⁻¹ (42 segundos), como demonstra a Tabela 3.

Tabela 3. Indução e recuperação do *Pseudoplatystoma corruscans* anestesiado até o Estágio IV.

Concentração mg L ⁻¹	Estágio IV	Posição normal	Reação de fuga	Sobrevivência %
50	0:49 a	1:29 a	2:06 a	100
75	0:50 a	2:34 b	3:13 b	100
100	0:42 b	2:46 b	3:46 b	100

Médias seguidas das mesmas letras, na mesma coluna, não diferem entre si ($p > 0,05$), utilizando o teste SNK.

A diferença entre os tratamentos ocorreu na fase de recuperação, quando os peixes anestesiados com 50 mg L⁻¹ de eugenol retornaram à posição normal mais rapidamente (1,29 minutos) que os tratamentos com 75 e 100 mg L⁻¹ de eugenol (2,34 e 2,46 minutos, respectivamente), não havendo, entretanto, diferença significativa entre os dois últimos tratamentos. Da mesma forma, os peixes tratados com 50 mg L⁻¹ de eugenol recuperaram o reflexo de fuga com apenas 2,06 minutos, significativamente mais rápido que os demais tratamentos (75 e 100 mg L⁻¹), que apresentaram tempos de 3,13 e 3,46 minutos, respectivamente, indiferenciados entre si ($p > 0,05$).

Durante os dois experimentos, houve apenas a morte de um animal, no primeiro ensaio, com a concentração de 100 mg L⁻¹. No período de observação, não ocorreu nenhuma morte entre os animais, fossem os tratados com eugenol ou aqueles do grupo controle.

A tosse dos animais, ao serem imersos na água com anestésico, foi semelhante à descrita por Grush *et al.* (2004), observando exemplares de paulistinha. Essa reação provavelmente é devida à própria substância anestésica (eugenol), uma vez que segundo Mylonas *et al.* (2005), em observações feitas em Robalo europeu e Dourada, o etanol utilizado na diluição do anestésico não provocou reações adversas nos animais. Por outro lado, em estudo comparativo entre o eugenol, MS-222, quinaldina, benzocaína e 2-fenoxietanol, Munday e Wilson (1997), trabalhando com *Pomacentrus amboinensis*, observaram que essa reação à substância anestésica é menos intensa quando o eugenol é utilizado.

De acordo com Waterstrat (1999), o eugenol provocou a perda total de equilíbrio em alevinos de bagre do canal a partir de concentração de 25 mg L⁻¹. Também foi constatado que a redução dos movimentos operculares só aconteceu em concentrações superiores a 50 mg L⁻¹. Nesse experimento, os animais ficaram imersos em água com eugenol durante 10 minutos. Da mesma forma, tambaquis apresentaram os mesmos padrões comportamentais, quando passado cerca de um minuto de exposição ao mentol, na concentração de 150 mg L⁻¹ (Façanha e Gomes, 2005) e benzocaína, utilizando a concentração de 100 mg L⁻¹ (Roubach *et al.*, 2005).

Os padrões de recuperação observados seguem os descritos por Waterstrat (1999). Marking e Meyer (1985) apontam que um período maior que 10 minutos é considerado crítico para recuperação total dos animais, tempo encontrado nas concentrações mais elevadas (75 e 100 mg L⁻¹),

testadas no primeiro experimento.

Segundo Roubach e Gomes (2001), o estágio normalmente utilizado para biometria, manuseio de peixes e reprodutores é a anestesia profunda (estágio IV), devendo ser atingido em 1 a 3 minutos. A recuperação deve ser rápida, não excedendo 5 minutos. Nos dois experimentos realizados para este trabalho, a concentração de 50 mg L⁻¹ foi capaz de preencher estes requisitos.

Waterstrat (1999) também descreveu mortalidade (50%) na concentração mais alta (300 mg L⁻¹) de eugenol que testou para bagre do canal. Nesse experimento, morreram 16,7% dos animais anestesiados com 100 mg L⁻¹.

Soto e Burhanuddin (1995), após utilizarem o eugenol em alevinos de "Goldenspot spinefoot", monitoraram os animais durante uma semana e não observaram a ocorrência de doenças e/ou mortalidade. Da mesma forma que Souza Junior e Alves Junior (2006), não relataram sinais de seqüela nos juvenis de robalo-flecha tratados com eugenol.

De acordo com Hoskonen e Pirhonen (2004), a temperatura apresenta forte influência sobre o efeito anestésico do óleo de cravo nos peixes. Testando nas temperaturas de 5, 10, 15 e 20°C, eles observaram que o aumento da temperatura provocou diminuição no período necessário para indução e recuperação anestésica em seis espécies.

Conclusão

Nas condições em que foram realizados os ensaios experimentais, a imersão dos juvenis de pintado, por 49 segundos, em água contendo eugenol na concentração de 50 mg L⁻¹, foi suficiente para a indução anestésica, além de preencher os requisitos necessários a um anestésico para biometria dos animais. Portanto, fica recomendada a sua utilização no manejo desses animais, uma vez que esse procedimento facilita o manuseio e não apresenta efeitos adversos aparentes à saúde dos mesmos. Deve-se considerar, no entanto, a temperatura da água, já que esse parâmetro possui forte influência na velocidade com que os animais atingirão os diferentes estágios anestésicos.

Agradecimentos

À Bahia Pesca, pela doação dos animais, à Piscicultura Douradense, pelo apoio fornecido neste e noutros trabalhos. Professor Alexander Gerard Steever van Herk, pelas sugestões e críticas nesse manuscrito.

Referências

- COYLE, S.D. *et al.* Anesthetics in aquaculture. Disponível em: <www.aces.edu/dept/fisheries/aquaculture/documents/5864154-3900fs.pdf>. Acesso em: 28 out. 2005.
- CUNHA *et al.* Níveis de cortisol em jundiás (*Rhamdia Quelen*) expostos ao óleo de cravo (Eugenol) e extrato de *Condalia Buxifolia*. In: AQUACIENCIA 2006, 2006. Bento Gonçalves. *Anais...* Bento Gonçalves: Sociedade Brasileira de Aqüicultura e Biologia Aquática, 2006. CD-Rom.
- FAÇANHA, M.F.; GOMES, L.C. A eficácia do mentol como anestésico para tambaqui (*Colossoma macropomum*, Characiformes: Characidae). *Acta Amazônica*, Manaus, v. 35, n. 1, p. 71–75, 2005.
- GRUSH, J. *et al.* The efficacy of clove oil as an anesthetic for the Zebrafish, *Danio rerio* (Hamilton). *Zebrafish*, New Rochelle, v. 1, n. 1, 2004.
- HOSKONEN, P.; PIRHONEN, J. Temperature effects on anaesthesia with clove oil in six temperate-zone fishes. *J. Fish Biol.*, London, v. 64, p. 1136–1142, 2004.
- INOUE, L.A.K.A. *et al.* Clove oil as anaesthetic for juveniles of matrinxã *Brycon cephalus* (Gunther, 1869). *Cienc. Rural*, Santa Maria, v. 33, n. 5, p. 943–947, 2003.
- IVERSEN, M. *et al.* The efficacy of metomidate, clove oil, Aqui-S™ and Benzoak® as anesthetics in Atlantic salmon (*Salmo solar* L.) smolts, and their potential stress-reducing capacity. *Aquaculture*, Amsterdam, v. 221, p. 549–566, 2003.
- KEENE, J.L. *et al.* The efficacy of clove oil as an anesthetic for rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Aquac. Res.*, Oxford, v. 29, p. 89–101, 1998.
- LAPEMM. *Histoquímica do cravo*. Disponível em: <<http://www.lapemm.ufba.br/cravo.htm>>. Acesso em: 28 out. 2005.
- MACHADO, J.H.; CARRATORE, C.R.D. *Manejo alimentar em piscicultura*. Marília: Editora Unimar, 1999.
- MARKING, L.L.; MEYER, F.P. Are better anaesthetics needed in fisheries? *Fisheries*, Bethesda, v. 10, p. 2–5, 1985.
- MUNDAY, P.L.; WILSON, S.K. Comparative efficacy of clove oil and other chemicals in anaesthetization of *Pomacentrus amboinensis*, a coral reef fish. *J. Fish Biol.*, London, v. 51, p. 931–938, 1997.
- MYLONAS, C.C. *et al.* 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*, Amsterdam, v. 246, p. 467–481, 2005.
- ROSS L.G.; ROSS B. *Anaesthetic and sedative techniques for aquatic animals*. 2. Ed. Oxford: Blackwell Science, 1999.
- ROUBACH, R. *et al.* Eugenol as an efficacious anaesthetic for tambaqui, *Colossoma macropomum* (Cuvier). *Aquaculture Res.*, Oxford, v. 36, n. 11, p. 1056–1061, 2005.
- ROUBACH, R.; GOMES, L.C. O uso de anestésicos durante o manejo de peixes. *Pan. Aquic.*, Rio de Janeiro, v. 66, n. 2, 2001.
- SOTO, C.S.; BURHANUDDIN. Clove oil as a fish anaesthetic for measuring length and weight of rabbitfish (*Siganus lineatus*). *Aquaculture*, Amsterdam, v. 136, p. 149–152, 1995.
- SOUZA JUNIOR, V.B.; ALVES JUNIOR, T.T. A eficácia do óleo de cravo (eugenol) como anestésico no manejo de juvenis de robalo-flecha *Centropomus undecimalis*, mantidos em cativeiro. In: AQUACIENCIA 2006, 2006. Bento Gonçalves. *Anais...* Bento Gonçalves: Sociedade Brasileira de Aqüicultura e Biologia Aquática, 2006, CD-Rom.
- TAVARES, M.P. O Surubim. In: MIRANDA, M.O.T. (Org.). *Surubim*. Belo Horizonte: Ibama, 1997. p. 9–25.
- VALISEK, J. *et al.* Effects of clove oil on Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Acta Vet. BRNO*, Brno, v. 74, p. 139–146, 2005a.
- VALISEK, J. *et al.* Effects of clove oil anaesthesia on common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Veterinární Med.*, Praha, v. 50, n. 6, p. 269–275, 2005b.
- VIDAL, L.V.O. *et al.* Utilização do eugenol como anestésico em alevinos de surubim. In: CONBEP 2005, 2005. Fortaleza. *Anais...* Fortaleza: Associação Brasileira dos Engenheiros de Pesca, 2005, CD-Rom.
- WAGNER, G.N. *et al.* The ability of clove oil and MS-222 to minimize handling stress in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum). *Aquac. Res.*, Oxford, v. 34, p. 1139–1146, 2003.
- WATERSTRAT, P.R. induction and recovery from anesthesia in channel catfish *Ictalurus punctatus* fingerlings exposed to clove oil. *J. World Aquac. Soc.*, Baton Rouge, v. 30, n. 2, p. 250–255, 1999.

Received on February 01, 2006.

Accepted on September 14, 2006.