



PUBVET, Publicações em Medicina Veterinária e Zootecnia.

Eugenol, sal e gesso no transporte de tambaqui em sistemas fechados

Genilson Maurício dos Anjos¹; Emerson Carlos Soares²; Luiz Henrique Nunes Dantas¹; Robson Batista dos Santos¹; Denise Maria Pinheiro²; Álvaro Alves Albuquerque³

¹ Graduando de Engenharia de Pesca – UFAL (bolsista CNPq)

² Professor Universidade Federal de Alagoas (UFAL)

³ Técnico da CODEVASF (CERAqua)

Resumo

O objetivo do trabalho foi avaliar o uso de sais e eugenol como redutores de mortalidade no transporte em sistemas fechados de juvenis de tambaqui. Para a determinação da melhor substância no transporte foram avaliadas: sal de cozinha (2,0 g/L), gesso (0,3 g/L), eugenol (4 µL/L) mais o tratamento controle. O experimento foi monitorado a cada duas horas nos tempos pós-transporte entre 2 a 16 horas com intuito de determinar a mortalidade. O nível de estresse dos peixes foi avaliado através dos níveis de glicose inicial e final. Tanto o sal como gesso foram eficientes na redução da mortalidade e sobrevivência dos exemplares.

Palavras-chave: *Colossoma macropomum*, sal, eugenol, transporte.

Eugenol, salt and plaster in the transport of tambaqui in closed systems

ABSTRACT

The objective of the work was to evaluate the use of salts and eugenol as mortality reducers in the transport in closed systems of tambaqui juveniles. For the determination of the best substance in the transport was appraised: cooking salt (2,0 g/L), plaster (0,3 g/L), eugenol (4 µL/L) more the treatment control. The experiment was monitored every two hours in the times powder- transports among 2 at 16 hours with intention of determining the mortality. The level of stress of the fish was evaluated through the levels of initial and final glucose. As for the best mortality reducer it was observed that as much the plaster as the salt they went more efficient for survival of the fishes.

Key words: *Colossoma macropomum*, salt, eugenol, transport.

INTRODUÇÃO

Muitos dos fatores para inibição de cultivos intensivos durante a fase inicial estão atrelados as altas taxas de mortalidade no manejo e transporte (ANJOS et al., 2008). Isto ocorre por consequência de agentes estressores decorrente do manuseio e desencadeiam alterações hormonais, fisiológicas e comportamentais (WEDEMEYER & MCLEAY, 1981).

O transporte de peixes é uma etapa fundamental do manejo em pisciculturas que tem por finalidade a criação, produção de juvenis com a finalidade de engorda, manutenção e formação de matrizes com fins reprodutivos, estabelecimentos tipo pesque-pagues e indústria processadora (GOMES et al., 2003).

Segundo ARAÚJO-LIMA & GOMES (2005) juvenis de tambaqui geralmente são transportados em sacos plásticos lacrados contendo água e oxigênio e acondicionados em caixas de papelão ou isopor. Além desta condição, o transporte destes organismos vem sendo otimizado por técnicas de

privação alimentar, manuseio correto dos exemplares ou substâncias que funcionam como redutores de mortalidade (cloreto de sódio, sulfato de cálcio e anestésicos como eugenol e benzocaína) (ROSS & ROSS, 1999; VIDAL et al., 2008).

O tambaqui, (*Colossoma macropomum*) (CUVIER, 1816), é um peixe pertencente à ordem Characiformes, família Characidae amplamente distribuído na bacia Amazônica e introduzido em algumas bacias incluindo a do rio São Francisco (BARBOSA & SOARES, 2009). Entre as espécies nativas brasileiras é uma das que têm apresentado bom desempenho para a piscicultura.

O uso de sais e anestésicos durante o transporte foi recomendado por vários autores, entre eles ROSS & ROSS (1999), entre os mais utilizados e geralmente adotados por várias instituições e piscicultores, destacam-se: sal de cozinha, gesso, benzocaína e óleo de cravo, devido o seu baixo custo e a facilidade na sua obtenção. O sal e o gesso são utilizados para reduzir o gradiente osmótico entre o peixe e água do transporte (WEDEMEYER, 1997), mantendo a saúde dos peixes durante o transporte, sendo uma das substâncias mais comuns, pois estimula a produção de muco e reduz a perda de sais do sangue para o meio. O uso de eugenol como anestésico surgiu com a necessidade de substâncias eficazes, com baixo custo e através de uma solução estoque em álcool, este pode ser diluído em água (ROUBACH et al., 2005; VIDAL et al., 2008).

Existem poucos relatos sobre tempo e concentrações ideais de substâncias para o transporte de juvenis, no sentido de otimizar sua sobrevivência. Portanto, este trabalho tem o objetivo de fortalecer o desenvolvimento do cultivo intensivo do tambaqui através da determinação de substâncias usadas no transporte em sacos plásticos fechados para juvenis da espécie.

MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos nos meses de fevereiro a abril de 2009 nas dependências do CERAQUA (Centro de Referência em Aquicultura), CODEVASF 5ª SR (Companhia de Desenvolvimento dos Vales do São Francisco e Parnaíba), localizado no município de Porto Real do Colégio-AL.

Na etapa de aclimação, os peixes foram acondicionados em dois tanques com volume de 5,0 m³ durante 5 dias, com aeração e renovação de água constante, alimentados com ração extrusada (Nutron com 32% de proteína bruta), à vontade duas vezes ao dia (8 e 16 horas).

Para início do experimento os peixes foram mantidos por em tanques de depuração por 36 horas sem alimentação para total evacuação gástrica. As unidades experimentais, sacos plásticos (sistema fechado), continham uma capacidade de 30 litros, sendo utilizados 20% de seu volume, (5L de água e o restante preenchido por oxigênio). A água utilizada nos sacos plásticos foi coletada na entrada do abastecimento dos tanques de depuração.

Os parâmetros de qualidade de água medidos no tanque de aclimação foram: pH (peagâmetro digital), oxigênio e temperatura (oxímetro YSI 55), amônia (kit de análise de água) e condutividade elétrica (condutivímetro).

Para primeira etapa, foram realizados 3 experimentos totalizando dez mil e oitocentos juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum*), com peso inicial de $10,5 \pm 1,86$ g, obtidos de duas desovas induzidas, utilizando-se um delineamento experimental 3 x 4 (três densidades de estocagem, 40, 60 e 80 ind/L) com quatro repetições por tratamento, afim de provar qual a melhor densidade para fase posterior do experimento.

Na segunda etapa, foram realizados dois experimentos totalizando doze mil e oitocentos juvenis de tambaqui com peso médio de $12,5 \pm 1,5$ g. Os tratamentos e concentrações utilizados foram: tratamento 1 (água e oxigênio), tratamento 2 (NaCl na concentração de 2,0 g/L), tratamento 3 (gesso na concentração de 0,3 g/L) e tratamento 4 (eugenol com concentração de 4µl/L). O experimento foi conduzido por intermédio de um delineamento experimental inteiramente casualizado constando de 4 tratamentos com quatro repetições

cada, utilizando a densidade 40 indivíduos/L. Os tempos pós-transporte utilizados foram: 2 a 16 horas. Os sacos eram monitorados a cada duas horas e observados minuciosamente com objetivo de realizar a quantificação dos indivíduos mortos.

Foram retiradas amostras de sangue de 30 exemplares para quantificação dos níveis iniciais de glicose. Posteriormente, utilizou-se 4 peixes por horário e por tratamento para avaliação das concentrações de glicose plasmática final determinadas com auxílio de aparelho de medição de glicose semelhante a um sistema enzimático colorimétrico. O sangue dos exemplares foi coletado da veia caudal com a utilização de seringa heparinizada.

A eficácia dos redutores de mortalidade foi analisada utilizando uma análise de variância (ANOVA, $p < 0,05$) e o teste Tukey (5%) para comparação de médias. O teste de Bonferroni foi utilizado para avaliar se haviam diferenças significativas entre os parâmetros de qualidade de água e os níveis de glicose inicial e final nos peixes. As análises foram realizadas por intermédio do programa estatístico Systat 12.0.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A melhor densidade de estocagem observada para o transporte foi a de 40 indivíduos por litro de água por um período de 12 horas de transporte, indicando menores índices de mortalidade, nível de amônia e oxigênio dissolvido em relação aos dois outros tratamentos, que não obtiveram diferenças estatísticas significativas um do outro (ANOVA, teste de Tukey, $p < 0,05$) (Tabela 1), sendo esta referência para etapas posteriores do experimento.

Tabela 1. Índices de mortalidade em diferentes densidades de estocagem após 12 horas de transporte em sistema fechado.

Variáveis	40 ind/L	60 ind/L	80 ind/L
Mortalidade total/12 h	32 ± 5,0 ^a	98 ± 9,1 ^b	121 ± 12,0 ^b
Mortalidade média/2h	5,5 ± 2,1 ^a	16,2 ± 5,0 ^b	20,8 ± 4,5 ^b
Coeficiente de variação	25%	26%	23%

*letras iguais indicam não haver diferença estatística.

Os parâmetros médios inicial de qualidade de água nas duas etapas do experimento medidos nos tanques de aclimação e sacos plásticos foram: pH $6,83 \pm 0,5$, temperatura $27,5 \pm 1,0$ °C, fosfato $< 0,001$ mg/L, condutividade $99,0 \mu\text{S}/\text{cm}^{-1}$, oxigênio dissolvido $6,8 \pm 0,7$ mg/L e amônia $1,8 \times 10^{-3}$ mg/L. Em nenhuma das fases do experimento ocorreu supersaturação de oxigênio nos sacos de transporte.

O aumento do tempo pós-transporte em 12 horas influenciou significativamente na queda dos níveis de oxigênio dissolvido e aumento dos níveis de amônia não ionizada (NH_3) nos sacos de transporte. Segundo KUBITZA (2009), ao longo do transporte pode-se esperar redução de pH da água, aumento na concentração de gás carbônico, e principalmente, aumento na concentração de amônia total.

Grande parte dos produtos nitrogenados eliminados pelas brânquias em peixes corresponde a fração de amônia letal. Em sistemas de transporte fechado, onde não ocorre renovação da água, tão pouco aeração do ambiente, estes parâmetros de qualidade de água, conjuntamente com o oxigênio e o tempo pós-transporte são as variáveis mais limitantes para sobrevivência de peixes e tendem ao aumento conforme o tempo e a densidade utilizada (SWANN, 1992).

Os níveis de amônia nos sacos de transporte que continham gesso e eugenol foram significativamente maiores do que nos outros tratamentos (Tabela 2). Este mesmo padrão foi encontrado por BENDHACKER (2004) com *Brycon amazonicum* e IWANA (1997) com trutas. Os tratamentos que

continham gesso, sal e eugenol não obtiveram diferenças significativas ($p < 0,05$), apresentando os maiores valores de pH. BENDHACKER (2004) encontrou este mesmo padrão para embalagens que continham CaSO_4 .

Tabela 2. Análise dos principais parâmetros de qualidade água medidos durante o experimento de transporte após 12 horas.

Parâmetros	Controle	Gesso	NaCl	Eugenol
pH	$5,00 \pm 0,2^a$	$5,94 \pm 0,2^b$	$5,76 \pm 0,2^b$	$5,60 \pm 0,2^b$
Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	$28,0 \pm 0,3^a$	$27,4 \pm 0,3^a$	$27,3 \pm 0,3^a$	$27,2 \pm 0,3^a$
Amônia (NH_3) (mg/L)	$2,8 \times 10^{-2} \pm 0,4^a$	$5,8 \times 10^{-2} \pm 0,2^b$	$3,6 \times 10^{-2} \pm 0,3^a$	$5,3 \times 10^{-2} \pm 0,4^b$
Oxigênio dissolvido (mg/L)	$1,2 \pm 0,2^a$	$1,0 \pm 0,1^a$	$1,1 \pm 0,1^a$	$1,5 \pm 0,3^a$

*Letras iguais indicam não haver diferenças significativas

No presente experimento, o uso de sal e gesso no transporte de tambaquis provaram ser os mais adequados agentes redutores de estresse, com menor mortalidade e nível de glicose e bons níveis de pH (ANOVA; Teste Tukey, $p < 0,05$) (Tabela 3).

Tabela 3. Índices de mortalidade e níveis de glicose por tratamento após 12 horas de transporte

Variáveis	Controle	Eugenol	Sal	Gesso
Mortalidade média /2h	$8,5 \pm 2,0^a$	$7,3 \pm 2,5^a$	$1,9 \pm 1,0^b$	$2,3 \pm 0,9^b$
Mortalidade total/12h	$56,0 \pm 10,5^a$	$46,0 \pm 9,0^a$	$12,0 \pm 2,0^b$	$14,0 \pm 1,5^b$
Níveis de glicose (mg/dL)	$126 \pm 12,0^a$	$112 \pm 17,0^a$	$78 \pm 7,0^b$	$72 \pm 5,0^b$

* Letras iguais indicam não ocorrer diferenças significativas.

O sucesso do sal como redutor de estresse pode estar atrelado ao efeito mantenedor do gradiente osmótico entre a água e o plasma sanguíneo do peixe. O sal também estimula a secreção de muco sobre o epitélio branquial (WURTS, 1995), possui efeito profilático é de fácil obtenção e possibilita comprovada eficácia no transporte de várias espécies (GOMES et al. 2003).

Em relação ao gesso (CaSO_4), BENDHACKER (2004) e IWANA (1997), concluíram que o matrinxãs e trutas transportadas com maiores concentrações

desta substância, apresentaram um melhor desempenho fisiológico. Esta hipótese é reforçada por MACDONALD & ROBINSON (1993) quando sugerem que o cálcio controla a perda de íons em situações de estresse dos peixes, já que esta molécula é essencial nos processos que envolvem à osmorregulação.

Embora tenha sido observado no trabalho atual que o gesso e o sal foram benéficos para sobrevivência de tambaquis em sistemas fechados, GOMES et al. (2006) trabalhando com transporte da mesma espécie observou que os tratamentos com gesso obtiveram a mesma sobrevivência que o tratamento controle e que o sal teve efeito contrário, aumentando a mortalidade. A explicação mais plausível para estes resultados contraditórios com uso de sal podem ser atribuídos a distúrbios osmorregulatórios, que em sistemas fechados, induzem o peixe a morte.

Os animais submetidos ao eugenol apresentaram hiperatividade, seguindo de um padrão letárgico, que culminou, ao final de 12 horas pós-transporte, em agitação e aumento do batimento opercular dos juvenis de tambaqui (Tabela 3). Este mesmo padrão foi observado por COLLINS (1978) e VIDAL et al. (2008), ao qual relatam que a euforia é o primeiro comportamento seguidos de um estado letárgico quando submetidos a processos anestésicos.

Apesar do eugenol não ter atuado positivamente como agente anti-estresse, respostas positivas foram observadas com o uso desta substância para indução anestésica da tilápia do Nilo (VIDAL et al. 2008). Tal fato pode ser atribuído a interação com neurotransmissores envolvidos com a sensação de dor, inibidores do sistema nervoso central (IGGO & KLEMM, 1996). Assim, é provável, que a resposta para explicar índices negativos de sobrevivência nas unidades experimentais do presente experimento submetidos a esta substância, esteja relacionada à exposição prolongada dos peixes as concentrações utilizadas, ao pH da água, que pode estar ligado a eficiência de alguns anestésicos ou ainda, ao nível de concentração do eugenol nos sacos de transporte.

Os indicadores mais utilizados na avaliação do estresse e que normalmente dão uma boa resposta são a glicose e o cortisol plasmáticos (TAKAHASHI et al. 2006). Em sistemas fechados, os níveis de glicose podem aumentar significativamente, após a etapa de manuseio intenso dos peixes, esta condição estressante ocasiona maior mortalidade nos primeiros horários de transporte. Este fato explica por que nas primeiras 4 horas pós-transporte, ocorreu maior mortalidade. Segundo MORGAN & IWANA (1997) a reação pode ser decorrente aos efeitos negativos do ambiente, que desencadeiam, através de processos hormonais, a liberação de adrenalina (aumento dos batimentos operculares), estimulando o fluxo sanguíneo e maior aporte de energia para compensar condições instáveis. Contudo, foi possível diagnosticar após 12 horas, quando os índices de amônia e glicose atingiram valores acima de 0,015 mg/L e 120 mg/dL, respectivamente, um aumento acentuado da mortalidade. De acordo com KUBITZA (2009), o aumento da adrenalina após o manuseio inicial, desencadeia um processo de elevação dos níveis de glicose, causando desequilíbrio osmorregulatório ao final do transporte. Adicionalmente, os níveis de amônia no sangue dos peixes tendem a elevar-se, com o aumento desta substância na água do transporte, dificultando a excreção passiva, contribuindo para diminuição da sobrevivência dos juvenis.

CONCLUSÕES

O sal de cozinha e o gesso se mostraram os melhores anti-estressores, no transporte de juvenis em sistemas fechados, com tempo de até 14 horas em uma densidade de transporte de 40 indivíduos por litro.

AGRADECIMENTOS

A CODEVASF- CERAQUA, por ter cedido gentilmente os juvenis e laboratórios para desenvolvimento do experimento.

ANJOS, G.M. et al. Eugenol, sal e gesso no transporte de tambaqui em sistemas fechados. **PUBVET**, Londrina, V. 5, N. 10, Ed. 157, Art. 1064, 2011.

REFERÊNCIAS

ANJOS, G. M. et al. Mortalidade no transporte do curimatã-pacu (*Prochilodus argenteus*), **Rev. Bras. Eng. Pesca**, v.3, p. 91- 96, 2008.

ARAUJO-LIMA, C.A.R.M.; GOMES, L.C. Tambaqui (*Colossoma macropomum*). In: Baldisseroto & Gomes (Eds). **Espécies nativas para piscicultura no Brasil**. Santa Maria: UFSM, 2005. Cap.8, p.175-202.

BARBOSA, J. M.; SOARES, E. C. S. Perfil da ictiofauna do São Francisco. **Rev. Bras. Eng. Pesca** v.4, n.1, p.155-172, 2009.

BENDHACK, F. Uso de sulfato de cálcio como redutor de estresse no transporte de matrinxãs (*Brycon cephalus*). 2004. 46f. Dissertação (Mestrado em Aquicultura) – Centro de Aquicultura, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Jaboticabal.

CARMICHAEL, G.J. et al. Physiological effects of handling and hauling stress on smallmouth bass. **Progressive Fish-Culturist**, v. 45, n.2, p.110-113, 1983.

COLLINS, V.J. **Princípios de anestesiologia**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1978. 1ed.

GOMES, L.C. et al. Effect of fish density during transportation on stress and mortality of juvenile tambaqui *Colossoma macropomum*. **Journal of Aquaculture Society**, v. 34, p.76-84, 2003.

GOMES, L. C. et al. Transportation of juvenile tambaqui (*Colossoma macropomum*) in a closed system. **Brazilian Journal of Biology**, v. 66, n.2, p 374-384, 2006.

IGGO, A.; KLEMM, W.R. Nervos, sinapses e reflexos. In: Swenson & Reece: **Fisiologia dos animais domésticos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996, p.699-713.

IWAMA, G.K. et al. Divalent cations enhance ammonia excretion in Lahontan cutthroat trout in highly alkaline water. **Journal of fish Biology**, v. 50, p.1061-1073, 1997.

KUBITZA, F. Manejo na produção de peixes parte 7. **Revista Panorama da Aquicultura** v.119, n. 114, p.14-23. 2009.

MCDONALD, D.G.; ROBINSON, J.G. Physiological responses of lake trout to stress effects of water hardness and genotype. **Trans. Am. Fish. Soc.** v. 122, p.1146-1155, 1993.

ROSS, L.G.; ROSS, B. **Anaesthetic and sedative techniques for aquatic animals**. Oxford: Blackwell Science, 1999.159 p.

ROUBACH, R. et al. Eugenol as an efficacious anaesthetic for tambaqui, *Colossoma macropomum* (Cuvier). **Aquaculture Research**, v.36, p.1056-1061, 2005.

SWANN, L., Transport fish in bags. Technical report, Sea Grant Program, Purdue University, Illinois – Indiana. 4p. 1992.

TAKAHASHI, L. S. et al. Efeito do ambiente pós-transporte na recuperação dos indicadores de estresse de pacus juvenis, *Piaractus mesopotamicus*. **Acta Sci. Anim. Sci.** v. 28, n. 4, p. 469-475, 2006.

ANJOS, G.M. et al. Eugenol, sal e gesso no transporte de tambaqui em sistemas fechados. **PUBVET**, Londrina, V. 5, N. 10, Ed. 157, Art. 1064, 2011.

VIDAL, L.V.O. et al. Eugenol como anestésico para a tilapia-do-nilo. **Pesq. Agropec. Bras.**, v.43, p.1069-1074, 2008.

WEDEMEYER, G. A.; McLEAY, D. J. Methods for determining the tolerance of fishes to environmental stressors. In: PICKERING, A. D. **Stress and fish**. London: Academic, 1981. p. 247-275.

WEDEMEYER, G. A. Effect of rearing conditions on the health and physiological quality of fish in intensive culture. In: IWAMA, G. K.; PICKERING, A. D.; SUMPTER, J. P.; SCHRECK, C. B. (Ed.). **Fish stress and health in aquaculture**. Cambridge: Cambridge University Press, 1997. p. 35-71.

WURTS, W. A. Using salt to reduce handling stress in channel catfish. **World Aquaculture**, v. 26, p. 80-81, 1995.