



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO**  
**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA**

**RESPOSTA ANESTESICA DO TAMBAQUI EXPOSTO AO EXTRATO AQUOSO DE**  
**CUNAMBÍ, *Clibadium surinamense* Linn.**

**VALÉRIA AMARAL DOS SANTOS**

**BELÉM**  
**2013**



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO**  
**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DA AMAZÔNIA**

**RESPOSTA ANESTESICA DO TAMBAQUI EXPOSTO AO EXTRATO AQUOSO DE  
CUNAMBÍ, *Clibadium surinamense* Linn.**

**Dissertação apresentada à Universidade  
Federal Rural da Amazônia, como parte das  
exigências do Curso de Mestrado em  
Aquicultura e Recursos Aquáticos Tropicais  
para obtenção do título de Mestre.  
área de concentração: Aquicultura,  
Orientador: Prof. Dr. Raimundo Aderson  
Lobão de Souza**

**BELÉM**  
**2013**

VALÉRIA AMARAL DOS SANTOS

**RESPOSTA ANESTESICA DO TAMBAQUI EXPOSTO AO EXTRATO AQUOSO  
DE CUNAMBÍ, *Clibadium surinamense* Linn.**

Dissertação apresentada à Universidade Federal Rural da Amazônia, como parte das exigências do Curso de Mestrado em Aquicultura: área de concentração Aquicultura, para obtenção do título de Mestre.

Aprovado em Agosto de 2013

BANCA EXAMINADORA

---

Prof. Dr. Raimundo Aderson Lobão de Souza (**Orientador**)

Universidade Federal Rural da Amazônia - UFRA

---

Prof. Dr. Rodrigo Takata (**Membro 1**)

Universidade Federal Rural da Amazônia- UFRA

---

Prof. Dr. Heitor Martins Júnior (**Membro 2**)

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária- EMBRAPA

---

Prof. Dr. Vicente Savonitte Miranda (**Membro 3**)

Universidade Federal Rural da Amazônia - UFRA

## DEDICATORIA

Ofereço e dedico esse trabalho a meus Pais

Vitor e Maria do Carmo

As minhas irmãs e ao meu irmão

Vanessa, Viviane e Vitor Junior

A minha Avó

Maria Domingas

Ao meu Esposo

Reginaldo Guedes

Pelo Amor, Incentivo e apoio durante essa Jornada.

## AGRADECIMENTOS

A Deus por dar-me força e capacidade de realizar meu trabalho.

Ao programa de Pós- Graduação em Aquicultura e Recursos Aquáticos Tropicais, Universidade Federal Rural da Amazônia, pela oportunidade de realização e conclusão do Mestrado.

Ao meu orientador Prof. Dr Raimundo Aderson Lobão de Souza pela confiança e ensinamentos.

Aos membros da banca examinadora, Prof. **Dr. Heitor Martins Júnior**, Dr. Rodrigo Takata, Dr. Vicente Savonitte Miranda pela grande contribuição e valorosas sugestões para o enriquecimento deste trabalho.

Ao Dr. Lourivaldo pelo desenvolvimento da metodologia de análise cromatográfica do cunaniol e sugestões oferecidas.

Ao Dr. Elielson Rocha pela identificação do Material Botânico.

Aos meus amigos e irmãos Caio Brito Lourenço, Guilherme Trindade Vasconcelos, Cinthia Silva Malcher e Paulo Roberto Brasil pelo companheirismo e que foram essências para a construção deste trabalho. E obrigada por fazerem parte da minha vida.

Aos meus amigos Estevan Martins, Alexandre, Dijair, Anderson e Rafaela pela amizade e que torceram por mim.

A Secretaria de Pesca e Aquicultura (SEPaq) em especial ao Marcio, por ter cedido os peixes para a realização deste trabalho.

A CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pelo incentivo a pesquisa e pela bolsa concedida.

Á todos aqueles que de alguma forma contribuíram e participaram de mais uma etapa da minha vida.

## SUMÁRIO

<b>RESUMO</b> .....	<b>13</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>14</b>
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	<b>10</b>
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	<b>11</b>
2.1. Objetivos Gerais .....	11
2.2. Objetivos Específicos .....	11
<b>3. REVISÃO BIBLIOGRAFICA</b> .....	<b>12</b>
3.1. A especie tambaqui, <i>Colossoma macropomum</i> . .....	12
3.2. Estresse de peixes na piscicultura .....	12
3.3. Uso de anestésicos em pisciculturas .....	13
3.4. Cunambí, <i>Clibadium surinamense</i> L .....	15
<b>REFERENCIAS</b> .....	<b>17</b>
<b>Artigo 1.</b> Características do Cunambí, <i>Clibadium surinamense</i> Linn, utilizado como anestésico para tambaqui. ....	<b>20</b>
<b>RESUMO</b> .....	<b>21</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>22</b>
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	<b>23</b>
<b>2. MATERIAL E METODOS</b> .....	<b>23</b>
2.1 Obtenção de extratos das folhas de <i>Clibadium surinamense</i> L. ....	23
2.2 Obtenção dos espectros de massas por CG-EM .....	24
2.3 Análise química do solo.....	25
<b>3. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>25</b>
3.1. Análise dos espectros de massas obtidos por Cromatografia Gasosa Acoplada à Espectrometria de Massas (CG-EM) .....	25
3.2. Análise química do solo.....	28
<b>4. CONCLUSÕES</b> .....	<b>30</b>
<b>REFERENCIAS</b> .....	<b>32</b>
<b>Artigo 2.</b> Eficácia do cunambí, <i>Clibadium surinamense</i> Linn, como anestésico para alevinos de tambaqui, <i>Colossoma macropomum</i> , CUVIER1818 (PISCES, CHARACIDAE), durante o transporte. ....	<b>33</b>
<b>RESUMO</b> .....	<b>34</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>35</b>
<b>1- INTRODUÇÃO</b> .....	<b>36</b>

<b>2. MATERIAL E METODOS</b> .....	37
2.1. Local de experimentação .....	37
2.2 Material biológico e aclimatação .....	37
2. 3. Coleta e identificação do material botânico.....	38
2.4. Preparo do extrato aquoso de <i>Clibadium surinamense</i> linn. ....	38
2.5. Teste experimental da ação anestésica do cunambí (tempo de indução e recuperação).....	39
2.6. Simulação do transporte.....	40
2.7. Análise estatística .....	41
<b>3. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	41
3.1 Tempo de indução e recuperação dos alevinos de tambaqui .....	41
3.2 Simulação de transporte dos alevinos de tambaqui submetidos ao extrato aquoso de Cunambí.....	45
<b>4. CONCLUSÃO</b> .....	47
<b>REFERENCIAS</b> .....	47
Artigo 3 Indução anestésica do extrato aquoso de cunambí, <i>Clibadium surinamense</i> Linn para a realização de biometrias em tambaquis, <i>Colossoma macropomum</i> .....	51
<b>RESUMO</b> .....	51
<b>ABSTRAT</b> .....	52
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	53
<b>2. MATERIAL E METODOS</b> .....	54
<b>3. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	56
3.1 Indução e recuperação anestésica dos juvenis de tambaqui.....	56
<b>4. CONCLUSÃO</b> .....	60
<b>REFERENCIAS</b> .....	61
<b>5. CONCLUSÕES GERAIS</b> .....	63

## RESUMO

A utilização de anestésicos na aquicultura é cada vez mais frequente para minimizar os danos causados pelo manejo durante o processo de cultivo. Este trabalho verificou a utilização do cunambi, *Clibadium surinamense* L como anestésico para tambaquis. Para identificar o tempo de indução anestésica, os peixes foram expostos individualmente a diferentes concentrações do extrato aquoso da planta em aquários com capacidade para 3L, durante 10 minutos para a avaliação da dose ideal. Após a indução os peixes foram para aquários livres do extrato aquoso da planta para avaliar o tempo de recuperação. Após a recuperação ao anestésico, foi monitorada a mortalidade e a qualidade de água em cada aquário experimental. Assim como a análise química do solo para verificar se houve influência entre o solo e o material botânico em estudo, do mesmo modo que a identificação das distintas substancias contidas nos extratos aquosos das folhas, através da análise por Gasosa Acoplada a Espectrometria de Massas (CG-EM), onde observou-se que a presença de duas substancias (o cunaniol e outra substancia não identificada), sendo esta última majoritária na fração. De acordo com os dados encontrados para o estudo de transporte, não houve diferença significativa entre as concentrações para o tempo de indução, demonstrando que o tempo de indução do extrato aquoso de cunambí é semelhante estatisticamente para todas as concentrações testadas, entretanto para o tempo de recuperação houve diferença significativa entre as concentrações testadas. Após a simulação do transporte, de acordo com o teste t, constatou-se que a concentração de 1ml/l, é significativa para diminuir a mortalidade dos alevinos de tambaqui durante o transporte de 12 horas de duração. Para a realização de biometria a concentração de 0,5 ml/L foi o tratamento que necessitou de maior tempo para atingir o estágio de indução desejado de sedação profunda (7,4 minutos), contudo houve diferença significativa em relação às concentrações de 1,5 (16,6 min) e 2,5 ml/l. (23.7 min) Entretanto, a concentração de 0,5 ml/L é a ideal para o procedimento de biometria e breve manejo. Os resultados obtidos sugerem que o cunambí é uma excelente alternativa na indução anestésica do tambaqui no transporte e biometria.

**Palavra chave:** Indução, anestésico, cunaniol.

## ABSTRACT

The use of anesthetics in aquaculture is increasingly used to minimize the damage caused by handling during the cultivation process. This study investigated the use of cunambi, *Clibadium surinamense* L as an anesthetic for tambaqui. To identify the time of induction of anesthesia, the fish were individually exposed to different concentrations of the aqueous plant extract in tanks with a capacity of 3L, for 10 minutes to evaluate the optimal dose. After induction for fish were free of aquarium aqueous plant extract to evaluate the recovery time. After the anesthetic recovery, mortality was monitored and the water quality in each experimental aquarium. As well as the chemical analysis of the soil to see if there was influence between the ground and the plant material under study, the same way that the identification of different substances contained in the aqueous extracts of the leaves, through the analysis by Gas Coupled with Mass Spectrometry (GC EM), where it was observed that the presence of two substances (the cunaniol and other unidentified substance), being this last the majority fraction. According to the findings for the study of transport, there was no significant difference between the concentrations for the induction time, demonstrating that the aqueous extract of cunambi induction time is statistically the same for all concentrations tested, but for the time recovery was no significant difference between the concentrations tested. After the simulation of transport, according to the T test, it was found that the concentration of 1ml / l, is significantly to reduce mortality of the fry tambaqui during transport of 12 hours duration. For performing biometric concentration of 0.5 ml / L was the treatment they needed more time to achieve the desired induction stage of deep sedation (7.4 minutes), however there was a significant difference compared to the concentrations of 1, 5 (16.6 min) and 2.5 ml / l. (23.7 min), however, the concentration of 0.5ml / L is ideal for the biometric management procedure and brief. The results suggest that cunambi is an excellent alternative in the anesthetic induction of tambaqui transportation and biometrics.

**Keyword:** Induction, anesthetic, cunaniol.

## 1. INTRODUÇÃO

A aquicultura é a produção de organismos aquáticos em cativeiro com grande potencial para o Brasil. Segundo dados da Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO, 2010), a produção mundial de pescado tanto da pesca como da aquicultura, alcançaram o total de 148 milhões de toneladas em 2010, dos quais 128 milhões se destinaram ao consumo humano. E de acordo com dados preliminares alcançou 154 milhões de toneladas em 2011.

Na última década, a produção de pescado proveniente da pesca vem se mantendo constante, em torno de 90 milhões de toneladas. Já aquicultura vem crescendo muito nas últimas décadas com uma taxa anual média de 8,8 %, no entanto, em ritmo mais lento comparado com as décadas de 80 e 90. Contudo, essa atividade alcançou em 2010 uma produção recorde de 60 milhões de toneladas (excluindo as plantas aquáticas e produtos não alimentares), com um valor estimado em 119 milhões de dólares (FAO, 2010). A aquicultura mundial recebe elevada importância devido à estagnação da pesca extrativa, visto que o consumo de pescado per capita vem aumentando rapidamente nas últimas décadas (de 9,9 kg na década de 60 para 18,6 kg em 2010) (FAO, 2010).

Dentre os organismos cultivados, houve um aumento da produção aquícola de água doce, de 50% na década de 80 para 62% em 2010, sendo representado principalmente pelo cultivo de peixes de água doce, demonstrando a importância da aquicultura de água doce no atual cenário mundial. Em 2010, a produção de pescado no Brasil foi da ordem de 1.264.765 toneladas, das quais 479.397 foram provenientes da aquicultura (Continental – 394.390 t e Marinha – 85.057 t), o que representa um incremento de 15,3% em relação à produção em 2009 (MPA, 2010).

Em relações a produção da aquicultura continental por regiões, a região Sul é a que apresenta a maior produção de pescado do país com 133.425,1 t (33,8% da produção nacional), seguida por Nordeste, Sudeste, Centro-Oeste e Norte (78.578,5 t, 70.915,2 t, 69.840,1 t e 41.481,1 t, respectivamente). A região Norte revela-se como a região com menor produção apesar de todo seu potencial hídrico, sendo os estados Amazonas (8.555,6 t), Rondônia (6.836,5 t), Tocantins (5.019,1 t) e Pará (3.071,2 t) os maiores produtores (MPA, 2010). Entretanto a região Norte apresenta amplas possibilidades para o aumento da produção aquícola continental brasileira, uma vez que detém uma grande diversidade de espécies dulcícolas que podem ser utilizadas na piscicultura e grandes áreas inundadas com elevado potencial hídrico.

Assim a produção aquícola no Brasil surge como uma alternativa para minimizar a pressão sob os estoques pesqueiros, assim como aumentar o consumo de proteína animal de boa qualidade e garantir a segurança alimentar (MPA, 2010). Contudo algumas práticas, tais como biometria, transporte, manejo utilizadas na aquicultura ocasionam o estresse desses peixes e conseqüentemente a diminuição dessa produção em muitas pisciculturas do País. Assim tais práticas, prejudicam o desempenho desses organismos nos cultivos, sendo necessária a busca por anestésicos que permitam o manuseio com o mínimo de perdas e conseqüentemente o gradativo processo de desenvolvimento econômico para os países em desenvolvimento.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1. Objetivos Gerais**

Avaliar a os efeitos do extrato aquoso de cunambi, *Clibadium surinamense L*, como anestésico para tambaquis no transporte e biometria, verificando também a substancia responsável por tal efeito anestésico dos peixes.

### **2.2. Objetivos Específicos**

Testar diferentes concentrações do cunambí, observando quais apresentam melhores tempos de indução e recuperação anestésica.

Verificar a concentração ideal do extrato aquoso do cunambí, como anestésico para tambaquis durante o transporte e manejo.

Avaliar o comportamento anestésico dos peixes submetidos ao extrato aquoso de cunambi.

Avaliar o número de peixes mortos após os tratamentos com o extrato aquoso da planta.

Identificar a substancia responsável pelo efeito anestésico nos peixes.

### 3. REVISÃO BIBLIOGRAFICA

#### 3.1. A ESPECIE TAMBAQUI, *Colossoma macropomum*.

Dentre as espécies de peixe produzidas no Brasil, destacam-se os peixes nativos do gênero *Colossoma*, conhecido vulgarmente por tambaqui. É uma espécie pertencente à família Characidae. Possui hábito alimentar onívoro com tendência a herbívoro, filtrador e frutívoro (NUNES et al., 2006). É um peixe de piracema, tropical das bacias dos rios Amazonas e Orinoco e está amplamente distribuído na parte tropical da América do Sul e na Amazônia Central (ARAÚJO- LIMA e GOLDING, 1998), além de ser considerado o maior Characiforme da região. Segundo Silva et al. (2007) é uma espécie rústica bastante apreciada na região Norte, principalmente pelo seu sabor, sendo uma das espécies mais cultivadas e de fácil aquisição de alevinos com excelente aceitação no mercado consumidor, além da adaptação ao confinamento e arraçoamento, características essenciais para as espécies de criação em cativeiro.

De acordo com Gomes et al.(2010) e Lopera- Barrero et al.( 2011), o tambaqui é o maior peixe de escama da América do Sul, pois chega a medir 90 cm de comprimento e a pesar 30 kg. Foi à terceira espécie de peixe mais produzida no país em 2010, representando 13,7% do total produzido, e a primeira espécie nativa em produção no país, com um aumento de 28,5% de 2008 até 2010, com um total médio produzido em 2010 de 54.313,1 toneladas (MPA, 2010).

#### 3.2. ESTRESSE DE PEIXES NA PISCICULTURA

A exposição dos peixes frequentemente ao estresse são inevitáveis em pisciculturas. Os peixes nessa situação estão constantemente submetidos a uma grande variedade de alterações no meio de cultivo, tanto internos (alterações químicas) quanto externa (manipulação) que ocasionam a redução da imunidade de inúmeros indivíduos, levando o aparecimento de agentes patógenos oportunistas e assim a perda de uma grande quantidade de peixes. Os sucessivos estresses de manejo refletem no bem estar do peixe provocando involuntariamente traumas, perda de muco e escamas e conseqüentemente a morte dos animais. Esses fatores significam a perda de lucros em grande escala nas pisciculturas. De acordo com Selye (1950) o estresse pode ser classificado como uma serie de respostas fisiológicas, denominada como Síndrome Geral de Adaptação, a qual apresenta três estágios: (1) reação de alarme: uma série de alterações fisiológicas, como resposta inicial ao estímulo, ocorre de forma a compensar o distúrbio; (2) resistência: respostas fisiológicas de ajuste ou

compensatórias para retorno à homeostase; (3) exaustão: a duração ou severidade dos distúrbios causados pela exposição ao estressor excede os limites, podendo levar a uma condição patológica ou morte dos indivíduos. Segundo Wendeelar- Bonga (1997), o estresse pode ser definido como uma condição em que o equilíbrio dinâmico do organismo, ou homeostase, é ameaçado ou perturbado pela ação de estímulos denominados estressores.

Desta forma, a utilização de anestésicos surge como uma ferramenta importante na aquicultura para mitigar tais interferências causadas pelo manejo, nas funções vitais e fisiológicas dos peixes. Assim como a mortalidade durante tais processos.

### 3.3. USO DE ANESTÉSICOS EM PISCICULTURAS

Substâncias anestésicas são frequentemente utilizadas para diminuir o estresse causado pelo manejo e manipulação direta dos animais na piscicultura. No entanto, cada anestésico exige uma concentração diferente para induzir o estágio anestésico desejado, para tanto se faz necessário testar várias concentrações antes do tratamento definitivo para não causar mortalidade dos animais expostos ao fármaco.

Pesquisa que buscam a utilização de anestésicos naturais derivados de plantas vem aumentando consideravelmente nos últimos anos, a exemplo do óleo de cravo (derivado da destilação de partes da planta) ou eugenol que foram testados como anestésicos em varias espécies do Brasil tais como tambaqui (ROUBACH *et al.*, 2005), pacu (*Piaractus mesopotamicus*) (GONÇALVES *et al.*, 2008), matrinxã (*Brycon cephalus*) (INOUE *et al.*, 2003) e pirarucu (*Arapaima gigas*) (HONCZARYK e INOUE, 2009). Assim como o mentol que foi utilizado por Façanha e Gomes (2005) como anestésico para tambaqui, este mesmo anestésico foi utilizado por Gonçalves *et al.* (2008) para anestésiar o pacu (*Piaractus mesopotamicus*).

A escolha do anestésico para peixes geralmente está relacionada com a viabilidade econômica e considerações legais (Iwana & Ackerman, 1994). De acordo com Ross & Ross (2009), outros fatores também devem ser levados em consideração na escolha do anestésico, dentre eles estão: 1- ter ação reversível; 2- Não deve ser irritante aos tecidos; 3- Deve ter seu início de ação rápido e ter duração suficiente a técnica adotada; 4- Deve apresentar grau reduzido de toxicidade; 5- Deve apresentar potencial suficiente para anestésiar; 6- Deve apresentar biocompatibilidade e boas propriedades de penetração aos sítios de ação; 7- Não deve desencadear reações alérgicas; 8- Deve ser estável em soluções e sofrer biotransformação rápida nos organismos e 9- Estar estéril ou capaz de ser esterilizado sem deteriorização.

A utilização de anestésicos sintéticos são amplamente empregados nas pisciculturas, tais como a tricaina metano sulfonato (MS-222), sulfato de quinaldina, benzocaína e fenoxietanol, no entanto podem causar perda de muco, irritação da brânquia e danos na córnea (INOUE *et al.*, 2003). Porém o único anestésico químico aprovado pelo FDA (Food and Drug Administration) para uso em peixes é o MS222, o qual não é produzido no Brasil (FAÇANHA e GOMES, 2005), haja vista que o alto custo destes produtos e dificuldades de importações dificultam seu uso (ROUBACH *et al.*, 2005). Façanha e Gomes (2005) relatam a utilização de substâncias anestésicas naturais como uma alternativa viável, frente ao alto custo e dificuldade de aquisição de anestésicos para esta finalidade. Desta forma justifica-se a necessidade de se buscar alternativas seguras a baixo custo de diferentes plantas, a exemplo do cunambí, *Clibadium surinamense* L, para procedimentos de anestesia em peixes. Assim, esse estudo dará subsídios para as autoridades responsáveis, pois no Brasil não há regulamentação para a utilização de anestésicos naturais. Dessa forma, a necessidade da busca por anestésicos de baixo custo são de grande importância para o setor aquícola.

Figura 1- Espécie vegetal cunambí, *C. surinamense* L encontrada no município do Acará/ Pará.



Fonte: valeria santos

O uso de anestésicos no manejo de peixes foi iniciado a partir de observações dos indígenas americanos, que colocavam rotenona, *Derris elliptica* para sedar e capturar os peixes na natureza (SEDGEWICK, 1986), estudos estão sendo realizados com inúmeras

plantas, tais com as do gênero *Derris sp* que possui como principal princípio ativo a rotenona, no entanto esses estudos são apenas de caráter toxicológicos, como avaliado por Mascaro et al. (1998) que determinaram a dose letal do pó de raízes de *Derris spp* para três espécies de peixes filogeneticamente diferentes e um mamífero roedor (rato).

### 3.4. CUNAMBÍ, *Clibadium surinamense* L

O *C. surinamense* L popularmente conhecido como cunambí, é uma planta do gênero *Clibadium* pertencente à família das Asteraceae encontrada na região Norte e Nordeste do Brasil. Devido ao comportamento entorpecente que causa ao peixe, são bastante utilizados pelos ribeirinhos para capturar peixes na pesca extrativista na região Amazônica. Do mesmo modo que indígenas empregam as folhas maceradas e misturadas com frutos de *Bactris gasipes*, transformadas em pequenas bolas, as quais são lançadas à água para envenenar e apanhar peixes (LE COINTE, 1947). Segundo Quilliam e Stables (1968) esse comportamento pode ser explicado pelo cunaniol, composto ativo presente na planta. Segundo Correa e Bernal (1990) e Bohm e Stuessy (1981) o cunambí apresenta os compostos químicos: germacrólido, 3,7-diglicosídeo de campferol, 3,7 diglicosídeo de quercetina, 3-*O*-glicosídeo de campferol, 3-*O*-glicosídeo de quercetina. Costa et al. (2006), identificaram um álcool C<sub>14</sub>, Cunaiol e Acetato de Cunaniol nas folhas de cunambí.

A utilização de *C. surinamense* L em peixes ainda é pouco estudada, sendo que trabalhos relacionados ao transporte e manejo de peixes não existem até o momento. O conhecimento de métodos que permitam intervenções nas funções vitais e fisiológicas dos peixes é importante para evitar que ocorra mortalidade durante o transporte ou manejo (OLSEN, et al., 1995; CUNHA, 2007). Para tanto, é importante estabelecer a melhor dosagem, visto que dosagens inadequadas podem ocasionar resultados contrários causando até a morte dos peixes. Por tanto, este estudo poderá dar subsídios para que futuramente essa planta possa ser utilizada para o manejo de peixes.

Segundo Arriagada (1995), este gênero possui 29 espécies, as quais são distribuídas desde o México a América do Sul, se desenvolvendo ao nível do mar até altitudes de 3400 metros, com alta concentração de espécies na Colômbia, Costa Rica e Equador.

É um arbusto perene que ocorre em bosque tropical úmido e/ou muito úmido (SCHNEE, 1984). O cunambí é tido como tônico e amargo, sendo recomendado para combater a anemia e clorose. Têm-se informações de que as folhas são usadas para curar a erisipela e quaisquer feridas (CORRÊA, 1984). Correa e Bernal (1990) descreveram que, na Colômbia esta espécie é empregada como sudorífico e nas enfermidades dos pés e pernas. De

acordo, com os mesmos autores essa espécie é utilizada para curar a sarna dos animais. A ingestão de folhas de cunambí parecem ser tóxicas e pode levar o indivíduo à morte (Lima et al. 1995). Segundo Corrêa (1984), a maior periculosidade está na seiva. Já Duke e Vasquez, (1994) relatam que não ser tóxico para humanos. No entanto, não há relatos de efeitos em humanos que consumiram peixe coletados usando o cunambí, e ambos os consumidores têm consumido peixes coletados desta maneira sem mostrar efeitos imediatos perceptíveis.

De acordo com Duke (1946), é uma erva cultivada com frequência na região do estuário paraense e nos rios. O emprego dessa planta como anestésico neste trabalho se deve principalmente as observações empíricas das populações ribeirinhas locais que utilizam essa planta macerada para capturar peixes que apresentam quadro de imobilidade na superfície da água em contato com a planta macerada, permitindo sua captura. Deste modo, espera-se que o comportamento relatado em peixes pela população local possa ocorrer de forma satisfatória, para que a espécie vegetal em estudo possa ser uma alternativa como anestésico para peixes a baixo custo.

Assim, torna-se importante o conhecimento da utilização do cunambí, como anestésico para tambaquis, a partir da influência das concentrações do anestésico na indução e recuperação dos animais e da observação de possíveis efeitos adversos após sua utilização, buscando dessa forma, determinar uma concentração segura de uso prático no campo para o manejo dos animais.

## REFERENCIAS

- ARAÚJO-LIMA, C. A. R. M.; GOULDING, M. Os frutos do tabaqui: ecologia, conservação e cultivo na Amazônia. **Tefé: Sociedade Civil Mamirauá; Brasília: CNPq**, 186p. 1998.
- ARRIAGADA, J. E. Ethnobotany of *Clibadium* L. (Compositae, Helianthaceae) in Latin America. **Economic Botany**, v.49, p. 328-330, 1995.
- BOHM, B.A.; STUESSY, T.F. Flavonol Derivates of the Genus *Clibadium* (Compositae). **Phytochemistry**, v.20, n.5, p.1053-1055, 1981.
- CORREA, J.E.; BERNAL, H.Y.; (eds.). **Especies vegetales promisorias de los países del Convenio Andrés Bello**. Bogotá: SECAB/Guadalupe, 1990. 569p. Tomo V. Letra C. (PREVECAB, Série Ciência e Tecnologia).
- CORRÊA, M.P. **Dicionário das plantas úteis do Brasil**. Colaboração de Leonan de Azeredo Penna. Rio de Janeiro: Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal, 1984.
- COSTA, E. A.; ROCHA, F. F.; TORRES, M. L. B.; SOUCCAR, C.; LIMA, T. C. M.; LAPA, A. J.; LIMA-LANDMAN, M. T. R. Behavioral effect of a neurotoxic compound isolated from *Clibadium surinamenses* L. (Asteraceae). **Neurotoxicology and Teratology**, v. 28, p. 349-353, 2006.
- CUNHA, M.A. Anestesia em jundiás (*Rhamdia quelen*) expostos a substâncias isoladas de plantas, 2007. 65f. **Dissertação (mestrado em Zootecnia)**- Universidade Federal de Santa Maria.
- DUCKE, A. Plantas de cultura pré-colombiana na Amazônia brasileira. Notas sobre as espécies ou formas espontâneas que supostamente lhes teria dado origem. Belém: **Instituto Agrônomo do Norte**, 1946. 24p. (Instituto Agrônomo do Norte. Boletim Técnico, 8).
- DUKE, J.A.; VASQUEZ, R. **Amazonian Ethnobotanical Dictionary**. London: Boca Raton/Ann Arbor/CRC, 1994. 215 p. il.
- FAÇANHA, M.F.; GOMES, L.C. A eficácia do mentol como anestésico para tabaqui (*Colossoma macropomum*, Characiformes: Characidae). **Acta Amazônica**, Manaus, v. 35, n.1, p. 71-75, 2005.
- FAO. **The state of world fisheries and aquaculture**. Rome, 2010. 145 p.
- GOMES, L.C.; Simões, L.N.; Araújo-Lima, C.A.R.M. 2010. Tabaqui (*Colossoma macropomum*), p.175-204. In: Baldisserotto, B.; Gomes, L.C. (Org.). **Espécies nativas para piscicultura no Brasil**. 2ª. Ed. Editora UFSM, Santa Maria.
- 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 Science**, 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**, v. 39, p.577-579, 2009.

INOUE, L.A.K.A.; SANTOS NETO, C.; MORAES, G. Clove oil as anaesthetic for juveniles of matrinxã *Brycon cephalus* (Gunther, 1869). **Ciência Rural**, v.33, n.5, p.943-947, 2003.

IWANA, G.; ACKERMAN, A. Anaesthetics. In: HOCHACHKA, P.; MOMMSEN. Analytical techniques in biochemistry and molecular biology of fishes. Amsterdam: **Elsevier Science**, v. 3, cap. 1, p. 1-5, 1994.

LE COINTE, P. Árvores e plantas úteis (indígenas e aclimadas): nomes vernáculos e nomes vulgares, classificação botânica, habitat, principais aplicações e propriedades. 2.ed. São Paulo: Companhia editora Nacional, 1947. 506p. (**A Amazônia Brasileira, 3**).

LIMA, R.M.S.; SANTOS, A.M.N. dos; JARDIM, M.A.G. Levantamento de plantas tóxicas em duas comunidades caboclas do estuário amazônico. **Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi**, v.11, n.2, 1995.

LOPERA-BARRERO, N.M.; RIBEIRO, R.P.; POVH, J.A.; VARGAS, L.D.M.; POVEDA-PARRA, A.R.; DIGMAYER, M. 2011. **As principais espécies produzidas no Brasil**, 143-215. in: LOPERA-BARRERO, N.M.; RIBEIRO, R.P.; POVH, J.A.

MASCARO, U. C. P. RODRIGUES, L. A., BASTOS, J. K., SANTOS, E., CHAVES, J. P. C. Valores de DL50 em peixes e no rato tratados com pó de raízes de *Derris* spp e suas implicações ecotoxicológicas. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, V. 18, p. 53-56,1998.

MPA. **Boletim estatístico da pesca e aquicultura**: Brasil 2008-2010. Brasília: [s.n.], 2010.

NUNES, E. S.; CAVERO, B. A. S.; PEREIRA-FILHO, M.; ROUBACH, R. Enzimas digestivas exógenas na alimentação de juvenis de tambaqui. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. 2006.

OLSEN, Y. A.; EINARSDOTTIR, I. E.; NILSSEN, K.J. Metomidate anesthesia in Atlantic salmon, *Salmo salar*, prevents plasma cortisol increase during stress, **Aquaculture**, v. 134, p. 155-168, 1995.

QUILLIAM, J. P.; STABLES, R. The effects of cunaniol a polyacetylenic alcohol isolated from the plant *Clibadium sylvestre*, on piscine behavior. **British Journal Pharmacology**, v. 34, p. 679-680, 1968.

ROSS, L. G.; ROSS, B. **Anaesthetic and sedative techniques for aquatic animals**, 3rd ed Blackwell, Lond, UK. 222 p., 2009.

ROUBACH, R.; GOMES, L.C.; FONSECA, F.A.L.; VAL, A.L. Eugenol as an efficient anaesthetic for tambaqui, *Colossoma macropomum* (Cuvier). **Aquaculture Research**, v.36, p.1056-1061, 2005.

SCHNEE, L. **Plantas Comunes de Venezuela**. 3.ed. Caracas: Universidad Central de Venezuela, 1984. 806p. p. 470.

SEDGWICK, C.J. Anesthesia in fish. *Veterinary Clinics of North America. Food and Animal Practice*, v.2, n.3, p.737-742, 1986.

SELYE H. 1950. The physiology and pathology of exposure to stress, a treatise based on the concepts of the general-adaptationsyndrome and the diseases of adaptation. Montreal: ACTA, Inc., Medical Publishers.

SILVA, J. A. M. da; PEREIRA-FILHO, M.; CAVERO, B. A. S.; OLIVEIRA-PEREIRA, M. I. Digestibilidade aparente dos nutrientes e energia de ração suplementada com enzimas digestivas exógenas para juvenis de tambaqui, *Colossoma macropomum* (Cuvier, 1818). *Acta Amazônica*, Manaus, 37(1): 157-164. 2007.

WENDEELAR BONGA SE. The stress response in fish. *Physiol Rev*, v.77, p.591-625, 1997.

Artigo 1. Características do Cunambí, *Clibadium surinamense* Linn, utilizado como anestésico para tabaqui.

## RESUMO

O *Clibadium surinamense* L., estar amplamente distribuído na região amazônica, sendo conhecido popularmente como cunambi. É uma planta que possui substâncias ictiotóxicas, pois provocam comportamento anestésico, embriaguez, paralisia ou até mesmo a morte dos peixes. Este trabalho foi desenvolvido com o objetivo de identificar as distintas substâncias contidas nos extratos aquoso das folhas de cunambi responsáveis pelos prováveis efeitos entorpecentes em tambaqui. Para tanto, foram realizadas análises por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM), onde observou-se dois picos principais, com tempo de retenção de 52,66 min para o cunaniol (**1**) e de 53,79 min para uma substância não identificada, sendo esta última majoritária na fração. Não foi observada a presença de cunaniol acetato nessa fração. Verificou-se por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM) o cunaniol (**1**) com  $m/z$  214 u.m.a (FM  $C_{14}H_{14}O_2$ ) e outro pico com tempo de retenção de 53,79 min referente a substância não identificada de  $m/z$  234 u.m.a., portanto, diferente do cunaniol acetato que tem  $m/z$  256 u.m.a. e FM  $C_{16}H_{16}O_3$ . De tal forma foi realizada a análise química do solo para verificar se houve uma influencia entre o solo e o material botânico em estudo, onde foi constatado não haver influencia entre ambos. A presença do cunaniol nas folhas de cunambí justifica a atividade anestésica produzida nos peixes durante a realização deste trabalho.

**Palavra chave:** Cunaniol, anestésico, cunambí.

## ABSTRACT

The *Clibadium surinamense* L., to be widely distributed in the Amazon region and is popularly known as cunambi. It is a plant that has ictiotóxicas substances which lead anesthetic behavior, drunkenness, paralysis or even fish death. This work was developed in order to identify the different substances in aqueous extracts of cunambi leaves likely responsible for narcotic effects in tambaqui. To do so, analyzes were conducted by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS), where we observed two main peaks, with retention time of 52.66 min for cunaniol (1) and 53.79 min for one unidentified substance, which is majority in the last fraction. There cunaniol the presence of acetate was observed in this fraction. It was found by gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC-MS) the cunaniol (1) with  $m/z$  214 one (FM C<sub>14</sub>H<sub>14</sub>O<sub>2</sub>) and another peak with retention time 53.79 min unidentified substance relating to  $m/z$  234 one therefore different from cunaniol acetate having  $m/z$  256 one and FM C<sub>16</sub>H<sub>16</sub>O<sub>3</sub>. Such deals with the chemical analysis of the soil to see if there was an influence of the soil and plant material under study, where it was found no influence between them. The presence of cunaniol in cunambí sheets justifies the anesthetic activity produced in fish during this work.

**Keyword:** Cunaniol, anesthetic, cunambí.

## 1. INTRODUÇÃO

O *Clibadium surinamense*, pertencente a família das Asteraceae é popularmente conhecido como cunambí sendo amplamente distribuído na região Amazônica do Brasil. É uma planta que possui propriedades entorpecentes sendo dessa forma utilizada pela população ribeirinha para facilitar a captura dos peixes por causar a paralisia desses organismos. Entretanto, as características das prováveis substâncias da planta que ocasionam o comportamento dos peixes é pouco estudado como anestésico em organismos aquáticos, sendo que o estudo dessa planta poderão dar subsídios para que futuramente possa ser utilizada como anestésico para organismos aquáticos. Dessa forma o objetivo deste estudo foi identificar a presença das substâncias majoritárias no extrato aquoso das folhas de cunambí responsáveis pelos prováveis efeitos entorpecentes em tambaqui, utilizados em ensaios biológicos paralelos a esse estudo.

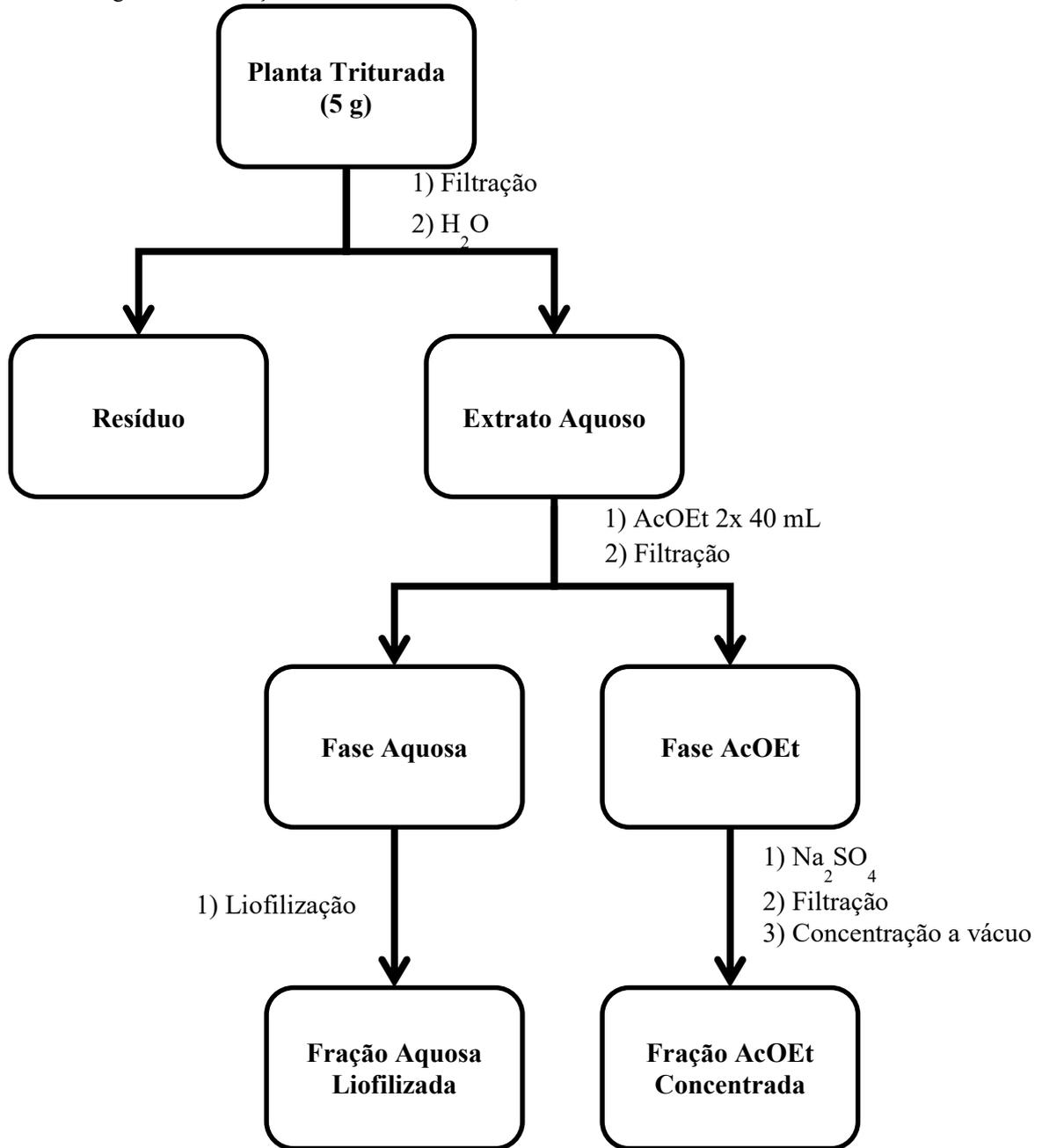
## 2. MATERIAL E METODOS

### 2.1 OBTENÇÃO DE EXTRATOS DAS FOLHAS DE *Clibadium surinamense* L.

As folhas frescas (10 Kg) foram limpas e secas em estufa com ventilação forçada em temperatura de  $40 \pm 5^\circ \text{C}$  por três dias, e posteriormente trituradas manualmente em pedaços menores para a obtenção de 5 kg de folha seca.

As folhas secas de cunambí (5g) foram trituradas manualmente e transferidas para um frasco de Erlenmayer de 250 ml contendo 100 ml de água destilada. O frasco foi agitado manualmente por diversas vezes durante 45 min. Após esse tempo, o material foi filtrado em papel de filtro e o filtrado foi extraído 2x com acetato de etila (AcOEt), com 40 ml pra cada extração. Os dois extratos de acetato de etila foram combinados, secados com  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anidro para eliminar traços de água, filtrado e concentrado sob pressão reduzida (vácuo) em evaporador rotativo, fornecendo a Fração Acetato de Etila Concentrada. A fase aquosa foi liofilizada fornecendo a Fração Aquosa Liofilizada. O esquema da Figura 3 ilustra o procedimento.

Figura 3- Fluxograma da obtenção de extratos de cunambí, *Clibadium surinamense* L.



## 2.2 OBTENÇÃO DOS ESPECTROS DE MASSAS POR CG-EM

A fração acetato de etila concentrada e a fração aquosa liofilizada foram analisados por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM) para identificação de substâncias presentes nesses materiais. Foi utilizado um cromatográfico modelo HP 5890B SERIES II, acoplado a um espectrômetro de massas modelo HP-5971 equipado com uma coluna capilar de sílica fundida J & W Scientific DB5 (30 m x 0,25  $\mu$ m). As temperaturas do

injetor e detector foram respectivamente 290°C e 285°C. O gás de arraste usado foi hélio com vazão de 1 mL/min e o programa de temperatura da coluna foi 40°C (1 minuto) até 220°C a 4°C/min; 220°C (0 minuto) até 280°C a 20°C/min. Os espectros de massas foram obtidos com impacto eletrônico de 70 e V, 0,84 scan/sec de m/z 40 a 550 u.m.a.

### 2.3 ANÁLISE QUÍMICA DO SOLO

Para verificar a influência entre o solo e o material botânico em estudo foi realizada a análise química do solo. Dessa forma, o solo foi coletado de 0 a 20 cm de profundidade com o auxílio de um trado segundo Silva (2003), sendo tomadas três sub- áreas, totalizando três amostras em torno da área plantada da espécie em estudo. As amostras foram homogeneizadas e acondicionadas em sacos plásticos para a posterior análise no laboratório de Química do solo da Universidade Federal Rural da Amazônia.

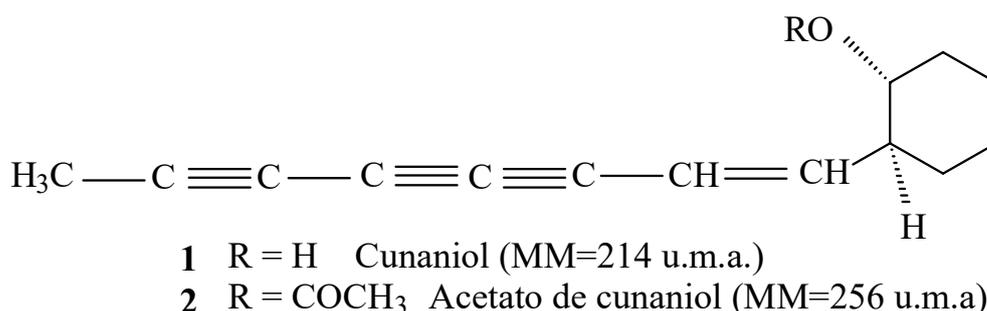
As determinações das propriedades químicas do solo foram feitas em amostras de TFSA de acordo com Embrapa (1979), para: pH [(em H<sub>2</sub>O e em solução de KCl 1 mol L<sup>-1</sup> (1:2,5)]; matéria orgânica (MO), método de Walkley-Black, N total (N), pelo método de Kjeldahl; fósforo disponível (P), potássio (K) e sódio (Na) trocáveis, usando o extrator Mehlich 1; e bases trocáveis (Ca, Mg) e alumínio trocável, usando como extrator o KCl 1 mol L<sup>-1</sup>.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.1. ANÁLISE DOS ESPECTROS DE MASSAS OBTIDOS POR CROMATOGRAFIA GASOSA ACOPLADA À ESPECTROMETRIA DE MASSAS (CG-EM)

Quilliam e Stables (1968) estudaram a ação de extratos das partes aéreas de *C. surinamense* L sobre peixes das espécies *Carassius auratus* (goldfish) e *Lebistes reticulatus* (guppies) e observaram que os efeitos da planta eram devidos ao cunaniol (**1**) e ao cunaniol acetato (**2**), Figura 9, sendo que a maior atividade foi devida ao cunaniol.

Figura 9- Estruturas químicas do cunaniol (**1**) e do acetato de cunaniol (**2**).



Foram realizadas análises por Cromatografia Gasosa Acoplada a Espectrometria de Massas (CG-EM) a partir de extratos aquosos das folhas de cunambí para observar a presença do cunaniol (**1**) e do cunaniol acetato (**2**) nas folhas de cunambí utilizadas neste trabalho. Deste modo, a fração acetato de etila concentrada e a fração aquosa liofilizada obtidas da extração das folhas de cunambi (Figura 3) foram analisadas por CG-EM nas condições indicadas no item 2.4.

O cromatograma da fração aquosa liofilizada não apresentou a presença das substâncias cunaniol e cunaniol acetato, indicando que essas substâncias foram eficientemente extraídas com acetato de etila para a fração acetato de etila, conforme procedimento mostrado no fluxograma da figura 3.

De acordo com a interpretação do cromatograma da fração acetato de etila concentrada (Figura 9), foram verificados dois picos principais, com tempo de retenção de 52,66 para o cunaniol (**1**) e de 53,79 min para uma substância não identificada, sendo esta última majoritária na fração. Não foi observada a presença de cunaniol acetato nessa fração. Entretanto nas condições de análise no extrato Acetato de etila (observadas a partir da cromatografia da figura 9 e das áreas dos picos) apresenta as seguintes porcentagens para os componentes majoritários: TR 52,66 (28,71%) referente ao cunaniol ( $m/z$  214) e TR 53,79 (56,18%) referente a substancia não identificada.

Neste trabalho não foi detectada a presença do cunaniol acetato e isso talvez possa ser explicado em função da sazonalidade que possa ter influenciado a presença dessa substância nas folhas da planta. Um estudo futuro de sazonalidade com monitoramento da produção do cunaniol (**1**) e do cunaniol acetato (**2**) nas folhas de *C. surinamense* L é de grande importância.

O espectro de massas da Figura 10 é referente ao pico com tempo de retenção de 52,66 min., que é devido ao cunaniol (**1**) com  $m/z$  214 u.m.a, ou seja, FM  $C_{14}H_{14}O_2$ . O espectro de massas da Figura 11 é referente ao pico com tempo de retenção de 53,79 min., que é devido a uma substância não identificada de  $m/z$  234 u.m.a, portanto, diferente do cunaniol acetato que tem  $m/z$  256 u.m.a. e FM  $C_{16}H_{16}O_3$ .

A presença do cunaniol nas folhas de cunambí justifica a atividade anestésica produzida nos peixes durante a realização deste trabalho. No entanto, sugere-se outros estudos com o isolamento do princípio ativo cunaniol para a comparação da atividade anestésica dos peixes durante o transporte, assim como a elucidação estrutural da substancia não identificada, e realização de ensaios biológicos com essa substância, como forma de averiguar sua atividade fisiológica nos organismos testados.

Figura 9- Cromatograma da fração acetato de etila concentrada obtida das folhas da espécie *Clibadium surinamense* L.

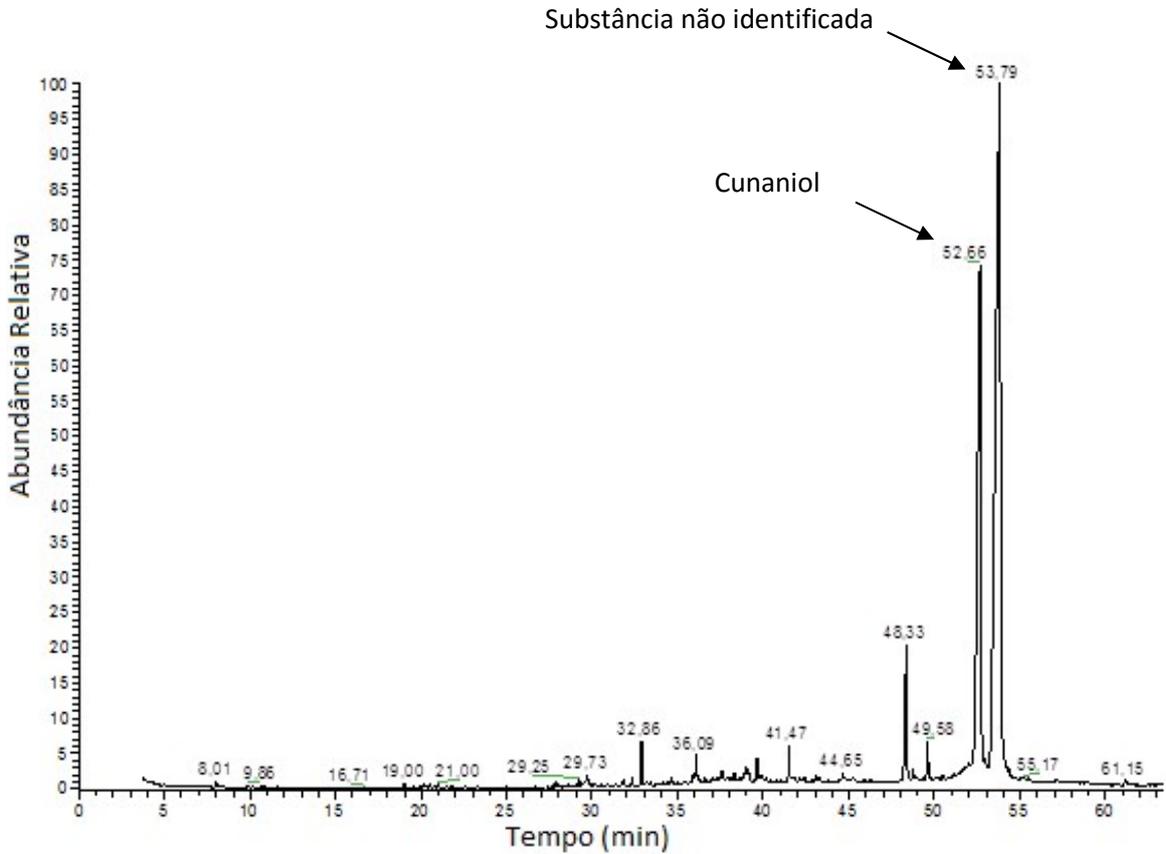


Figura 10- Espectro de massas do pico em 52,66 min referente ao cunaniol ( $m/z$  214 u.m.a) presente na fração acetato de etila concentrada da espécie *Clibadium surinamense* L.

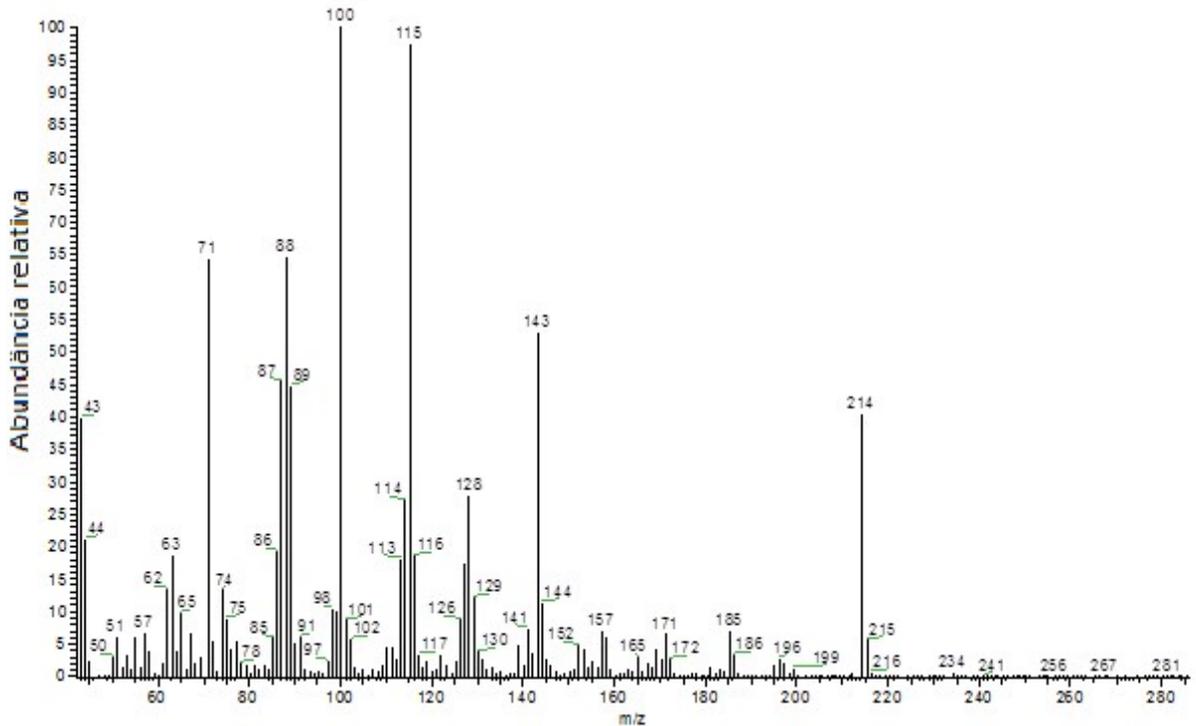
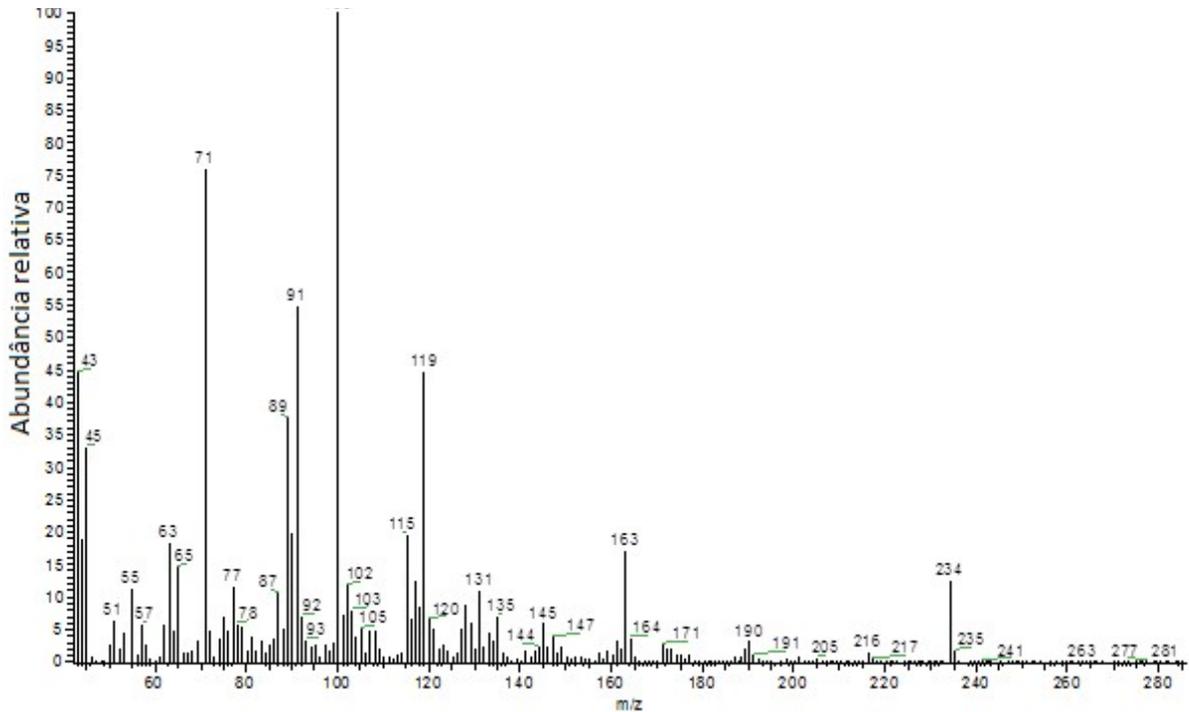


Figura 11- Espectro de massas do pico 53,79 min. Referente à substância não- identificada (m/z 234 u.m.a) presente na fração acetato de etila concentrada da espécie *Clibadium surinamense* L.



### 3.2. ANALISE QUIMICA DO SOLO

Com relação aos resultados encontrados da análise química do solo, apresentados na Tabela 3 os valores de pH em água variaram de médio a elevado, caracterizando uma acidez elevada do solo.

Os solos das três áreas apresentaram acidez média a elevada (o que implica para a planta) (Tomé Jr., 1997) com valor pH mínimo de 5,0 e máximo de 5,5. Estes valores são frequentemente verificados em solos de elevado grau de intemperismo, como os solos da Amazônia, devido à lixiviação das bases, mineralogia da argila e altas disponibilidades de elementos de caráter ácido como o  $Al^{+3}$  e  $Mn^{+2}$  no solo. Silva et al. (2006) ao analisarem amostras de Latossolo Amarelo em Marituba-Pa verificaram valores que variaram 4,4 a 5,7 em diferentes sistemas de uso do solo.

Provavelmente a pratica da queima tenha elevado temporariamente esses valores de pH. De acordo com Batista et al (1997), o pH do solo é elevado temporariamente dependendo da quantidade de cinzas liberadas, do pH original do solo, da composição da cinza. Os valores de pH em KCl apresentaram valores baixos, caracterizando solos extremamente intemperizados.

**TABELA 3-** Atributos químicos de um Latossolo Amarelo sob diferentes tipos de cobertura do vegetal, na profundidade de 0-20 cm, do município de Acará (PA). Média de três repetições.

Área	pH		MO	P disp	K	Ca	Mg	Al	H+A	CTCef	CTC	V	m
	H <sub>2</sub> O	KCL	g/k	mg/dm <sup>3</sup>	----- cmol <sub>c</sub> .dm <sup>-3</sup> de TFSA -----				1	pH7	----- % ---	---	
1	5,2	4,4	40,4	2,7	0,1	3,3	0,7	0,2	8,33	4,51	12,61	33,9	5,1
2	5,0	4,2	36,5	5,9	0,1	2,5	0,5	0,4	7,66	3,70	10,94	30,0	11,4
3	5,5	4,7	33,3	5,0	0,1	2,9	0,8	0,2	7,72	4,18	11,67	33,8	5,5

Área	pH		M	P disp	K	Ca	Mg	Al	H+A	CTCef	CTC	V	m
	H <sub>2</sub> O	KCL	g/k	mg/dm <sup>3</sup>	----- cmol <sub>c</sub> .dm <sup>-3</sup> de TFSA -----				1	pH7	----- % ---	---	
1	5,2	4,4	40,4	2,7	0,1	3,3	0,7	0,2	8,33	4,51	12,61	33,9	5,1
2	5,0	4,2	36,5	5,9	0,1	2,5	0,5	0,4	7,66	3,70	10,94	30,0	11,4
3	5,5	4,7	33,3	5,0	0,1	2,9	0,8	0,2	7,72	4,18	11,67	33,8	5,5

CTCef: Capacidade de troca de Cátions efetiva CTC: Capacidade de troca de Cations; V: Percentagem de saturação por bases; m: Percentagem de Saturação por Alumínio.

Os teores de matéria orgânica encontrados nas amostras de solo apresentaram mínimo de 33,3 e máximo de 40,4 mg dm<sup>-3</sup>, fato que pode estar relacionado a diferença entre as áreas, entretanto, todas foram classificadas como altas, de acordo com Tomé Jr (1997). Um alto conteúdo de matéria orgânica no solo pode ser importante fonte de nutrientes para as culturas e um bom indicativo de qualidade microbiológica (Vasconcelos et al., 2012). Os mesmos autores encontraram teores médios de 10,9 nas camadas 0-20 cm de profundidade em um Argissolo Amarelo localizado no nordeste paraense.

Os teores de fósforo apresentaram mínimo de 2,7 e máximo de 5,9 mg dm<sup>-3</sup>, sendo todos classificados baixos por Cravo et al. (2010). Silva et al. (2005) encontraram em um

Latossolo Amarelo sob floresta teores médios de fósforo extraível por Melich-1 de 4,3 mg dm<sup>-3</sup>, semelhantes aos encontrados no presente estudo. Esses baixos teores são comuns em solos de elevado grau de intemperismo que apresentam grande capacidade de fixação de fósforo pelos óxidos e hidróxidos de ferro e alumínio, fator que reduz a disponibilidade para as plantas (NOVAIS et al., 2007).

Os teores de alumínio trocável no solo apresentaram valores mínimos de 0,23 e 0,42 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> e foram classificados, respectivamente, como baixo e médio segundo Cravo et al. (2010). Vasconcelos et al. (2012) encontraram valores médios de 0,35 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> em solos do nordeste paraense, próximos aos encontrados no presente estudo. Os baixos teores de alumínio podem estar associados ao alto conteúdo de matéria orgânica, que disponibilizam bases ao solo e bloqueiam os sítios de adsorção deste elemento nas arestas das argilas silicatadas.

A CTC efetiva do solo apresentou valores mínimos de 3,7 e máximos de 4,51 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> e a pH<sub>7</sub> apresentou valores mínimos de 10,94 e 12,61 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>. O efeito da matéria orgânica no solo ao ser mineralizada fornece cargas negativas ao solo, aumentando a capacidade de troca de cátions. Vasconcelos et al. (2012) encontraram valores de CTC efetiva de 2,52 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> e CTC pH<sub>7</sub> de 8,37 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>, menores do que na presente amostra.

A porcentagem de saturação por bases no solo apresentaram mínimo de 30 e máximo de 33,9 %, sendo classificados como solos distróficos por EMBRAPA (2006) e Tomé Jr. (1997), concluindo-se que são de baixa fertilidade. Mesmo com o elevado teor de matéria orgânica, o fornecimento de cátions básicos pela mineralização da matéria orgânica não é suficiente para permitir um elevado grau de saturação por bases, como por exemplo, acima de 50%, devido principalmente, a elevada ação dos agentes de intemperismo típicos na região amazônica. A soma de bases nos solos avaliados apresentou teores mínimos de 3,28 e máximos de 4,28 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>. Silva et al. (2006) ao estudarem propriedades químicas de um Latossolo Amarelo no nordeste paraense, sob pastagem abandonada, encontraram valores de soma de bases de 3,1 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>, semelhantes as presentes áreas.

#### 4. CONCLUSÕES

- Foram encontradas duas substâncias majoritárias (Cunaniol e substância não identificada) a partir da cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM), onde provavelmente a presença do cunaniol justifique a resposta anestésica dos peixes.

- A análise química do solo demonstrou não haver influencia entre o solo e o material botânico em estudo.

## REFERENCIAS

- BAPTISTA, GM de M. Diagnostico ambiental da perda laminar de solos no Distrito Federal, por meio de geoprocessamento. UnB, 1997.
- CRAVO, M. da S., VIÉGAS, I. de J. M., BRASIL, E. C. Recomendação de adubação e calagem para o Estado do Pará. **Embrapa Amazônia Oriental**. 1 ed., 262 p., 2010.
- EMBRAPA. Sistema Brasileiro de Classificação de solos. 2ed. Rio de Janeiro, **Embrapa solos**, 2006. 306 p.
- NOVAIS, R. F. Fósforo. In: NOVAIS, R. F. (editor). Fertilidade do solo. **Sociedade Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, 2007. 1017 p.
- QUILLIAM, J. P.; STABLES, R. The effects of cunaniol a polyacetylenic alcohol isolated from the plant *Clibadium sylvestre*, on piscine behavior. **British Journal Pharmacology**, v. 34, p. 679-680, 1968.
- SILVA, G. R.; SILVA JR, M. L. da; MELO, V. S. de. Efeitos de diferentes usos da terra sobre as características químicas de um latossolo amarelo do estado do Pará. **Acta Amazônica**. v. 36, p. 151-158, 2006.
- SILVA, D.D.; PRUSKI, F.F.; SCHAEFER, C.E.G.R.; AMORIM, R.S.S & PAIVA, K.W.N. Efeito da cobertura nas perdas de solo em um Argissolo Vermelho- Amarelo utilizando simulador de chuva. *Eng. Agric.*, 25:409-419, 2005.
- TOMÉ JR., J. B. **Manual para interpretação de análise de solo**. Agropecuária, Guaíba, 1997. 247p.
- VASCONCELOS, L. G. T. R.; KATO, O. R.; VASCONCELOS, S. S. Matéria orgânica leve do solo em sistema agroflorestal de corte e trituração sob manejo de capoeira. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v. 47, p. 1142-1149, 2012.
- SILVA, S. B. **Análise de Solos**. Belém: Universidade Federal da Amazônia, 2003.

**Artigo 2** Eficácia do cunambí, *Clibadium surinamense linn*, como anestésico para alevinos de tambaqui, *colossoma macropomum*, cuvier1818 (pisces, characidae), durante o transporte.

## RESUMO

Os anestésicos são substâncias bastante utilizadas na aquicultura para minimizar as perdas durante o manuseio e transporte de peixes. Este trabalho tem como objetivo avaliar a eficiência do cunambí, *clibadium surinamense* L como anestésico para alevinos de tambaqui, *Colossoma macropomum* durante o transporte. Para tanto, os alevinos foram expostos a teste experimentais, onde foram submetidos individualmente a diferentes concentrações (1, 2, 3 e 4 ml/l) do extrato aquoso de cunambí em aquários com capacidade para 3L, durante 10 minutos para avaliação da dose ideal para o transporte de 12 horas, das quais foram retiradas 1 e 2 ml/l para a simulação do transporte. A recuperação foi conduzida em um aquário, contendo 2 litros de água livre de anestésico, com aeração constante e aferido o tempo de recuperação. Após a exposição ao anestésico foi monitorada a mortalidade e a qualidade de água em cada um dos 24 aquários. De acordo, com os dados encontrados não houve diferença significativa entre as concentrações para o tempo de indução, demonstrando que o tempo de indução do extrato aquoso de cunambí é semelhante estatisticamente para todas as concentrações testadas, entretanto para o tempo de recuperação houve diferença significativa entre as concentrações testadas. Para simular as condições usuais de transporte na piscicultura comercial foram utilizados sacos plásticos supridos com 10L de água preenchidos com gás oxigênio, onde foram submetidos as concentrações testes de 1ml/l e 2ml/l de extrato aquoso da planta. Após a simulação do transporte, constatou-se que a concentração de 1ml/l é significativa para diminuir a mortalidade dos alevinos de tambaqui durante o transporte de 12 horas de duração.

**Palavras-chave:** Anestesia, estresse, piscicultura.

## ABSTRACT

The anesthetics are substances widely used in aquaculture to minimize losses during handling and transportation of fish. This study aims to evaluate the cunambí efficiency, *Clibadium Surinamense* L as an anesthetic to fry tambaqui, *Colossoma macropomum* during transport. To do so, the fry were exposed to experimental test, which were submitted individually to different concentrations (1, 2, 3 and 4 ml / l) of the aqueous extract of cunambí in aquariums with a capacity of 3L, for 10 minutes to evaluate the optimal dose for the transport of 12 hours, which were removed dais 1 to 2 ml / l to simulate transport. The recovery was conducted in a tank containing 2 liters of anesthetic free water, measured with constant aeration and recovery time. After exposure to the anesthetic mortality was monitored and the water quality in each of 24 aquaria. In accordance with the data found no significant difference between the concentrations for the induction time, demonstrating that the time of the aqueous extract of cunambí induction is statistically similar for all tested concentrations, however to the recovery time was no significant difference between the concentrations tested. To simulate the usual conditions of transport in commercial fish farming were used plastic bags supplied with 10L of water filled with oxygen gas, where they underwent the test concentrations of 1 ml / l and 2 ml / l aqueous plant extract. After the simulation of transport, it was found that the concentration of 1ml / l is significant to reduce mortality of the fry tambaqui during transport of 12 hours duration.

**Keywords:** Anesthesia, stress, fish farming.

## 1- INTRODUÇÃO

Em piscigranjas, os peixes estão frequentemente expostos a grandes períodos de estresses ocasionados pela prática de manejos, dentre os quais a biometria, e o transporte de peixes vivos. O transporte de peixes vivos em pisciculturas é hoje uma prática bastante empregada. No entanto, essa técnica é apontada como um dos principais fatores que ocasionam o estresse em peixes, levando a maioria dos peixes à morte, causando assim, elevados custos aos produtores.

Dentre os peixes cultivados o tambaqui, *Colossoma macropomum*, é uma das espécies que mais chama atenção nesse sentido, destaca-se por ser uma espécie bastante utilizada em cultivos sendo exposta a diferentes técnicas de manejo e transporte. Contudo, durante o transporte e manejo mostram comportamento bastante agitado, o que provoca ferimentos e perda de escamas, doenças e mortalidade em decorrência dessas práticas comuns na aquicultura (KUBTIZA, 1997). Deste modo, os anestésicos surgem como alternativa para diminuir os estresses causados por essas práticas.

Atualmente as substancias sintéticas minimizadoras de estresses possuem caráter oneroso a exemplo do MS-222, a quinaldina e o 2-fenoxietanol, o que dificulta sua aquisição por pequenos proprietários. Entretanto apenas o MS-222 é regulamentado para a utilização em pisciculturas.

O uso de substancias naturais produzidas no Brasil para diminuir esses estresses em peixes, está sendo alvo de diversas pesquisas, tais como o óleo de Cravo e o mentol (*Mentha arvensis* L.). Entretanto, dados referentes ao comportamento de alevinos de tambaqui expostos a anestésico de caráter natural com plantas endêmicas na região Norte do Pará, são de extrema importância para o manejo desses animais e o crescimento da piscicultura a nível regional e nacional a baixo custo. De acordo com Mello (2010), a escolha de um anestésico está relacionada com o preço, disponibilidade no mercado, eficiência, finalidade de uso e o destino do animal após a aplicação da droga.

O *Clibadium surinamense* L, popularmente conhecido como cunambí, é uma planta utilizada pela população ribeirinha da região amazônica na pesca predatória devido a suas propriedades ictiotóxicas (COSTA et al. 2006) bem como, facilitando a captura de peixes (CORRÊA, 1984). O cunambí surge como uma alternativa eficaz para minimizar o estresse durante o transporte. No entanto, estudos referentes a esta planta como anestésicos durante o transporte, são inexistentes na literatura. Dessa forma, tem como objetivo avaliar a eficácia do extrato aquoso do cunambí como anestésico para alevinos de tambaqui durante o transporte.

## 2. MATERIAL E METODOS

### 2.1. LOCAL DE EXPERIMENTAÇÃO

O experimento foi conduzido no Laboratório de Aquicultura Tropical da Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA), Belém, Pará, no período de maio a junho de 2012.

### 2.2 MATERIAL BIOLÓGICO E ACLIMATAÇÃO

Foram utilizados 696 alevinos de tambaqui com comprimento médio total de  $3,2 \pm 0,91$ cm, pesando em média  $0,71 \pm 0,70$  g (DP), provenientes da Estação de Piscicultura da SEPAq (Secretária de Estado de Pesca e Aquicultura) localizada no município de Terra Alta, no Estado do Pará.

Os alevinos foram aclimatados em caixa circulares de fibra (150L) (Figura 2) em um sistema de circulação fechado, com aeração constante por um período de 72 horas. Durante a aclimação, os peixes foram alimentados, até a saciedade aparente, em duas refeições diárias com ração comercial de 45% de proteína bruta para peixes onívoros. Vinte e quatro horas antes do início do experimento a alimentação foi suspensa, uma vez que a alimentação interfere na ação do fármaco (BROWN, 1993).

Figura 2- Aclimação dos alevinos de tambaqui



Fonte: Valéria Santos

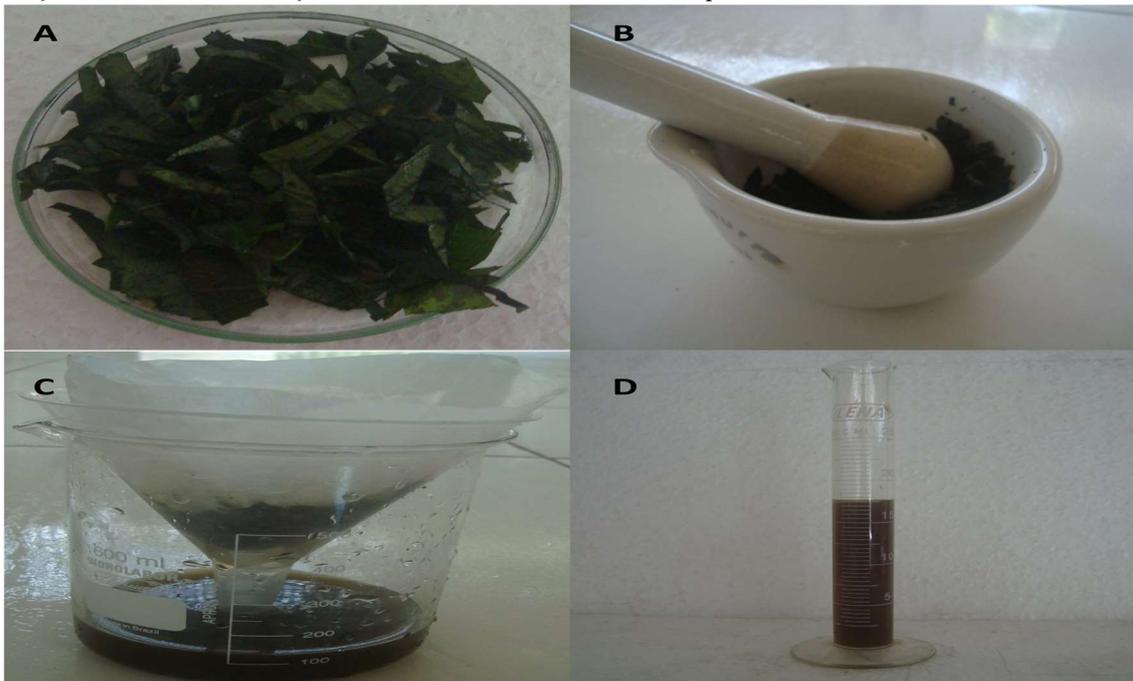
### 2.3. COLETA E IDENTIFICAÇÃO DO MATERIAL BOTÂNICO

A coleta do material botânico foi realizada na cidade do Acará/Pará, em área de terra firme. A identificação e classificação do material botânico foi realizada no Laboratório de Botânica- Herbário do Museu Paraense Emílio Goeldi, município de Belém/ PA pelo professor Dr. Elielson Rocha, taxonomista vegetal do Museu Paraense Emílio Goeldi. Estando uma exsicata depositada no Herbário da instituição Museu Paraense Emílio Goeldi, sob o número de MG N° 26804, obedecendo ao protocolo de coleta reconhecido internacionalmente (GREUTER, 1998).

### 2.4. PREPARO DO EXTRATO AQUOSO DE *Clibadium surinamense* Linn.

As folhas de Cunambi foram lavadas com água corrente e em seguida, depositadas em papel toalha. Posteriormente as folhas foram cortadas com tesoura para a obtenção de pedaços pequenos e pesadas 5g do material botânico. Em seguida as folhas foram maceradas em cadinho de porcelana com 10 ml de água para cada 5g de folha cortada e após, filtradas com filtro de papel comum (Figura 4). O extrato aquoso obtido foi imediatamente utilizado nos aquários experimentais com dimensões de 25 cm de comprimento, 10 cm de largura e 15 cm de altura, com aeração constante.

Figura 4- Etapas de preparação do extrato aquoso de cunambí, *C. surinamense* L. A: folhas cortadas; B: maceração das folhas; C: Filtração do material botânico; D: extrato aquoso de cunambi.

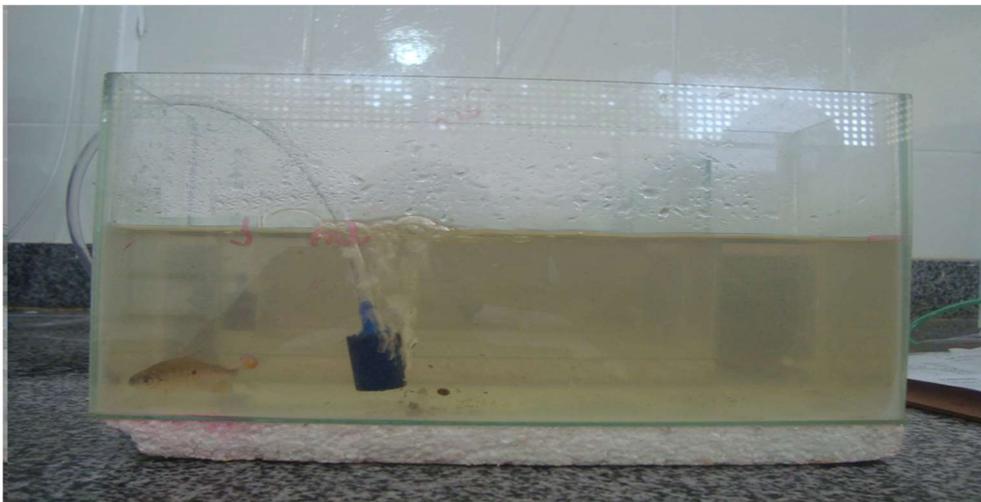


Fonte: Valéria Santos

## 2.5. TESTE EXPERIMENTAL DA AÇÃO ANESTÉSICA DO CUNAMBÍ (TEMPO DE INDUÇÃO E RECUPERAÇÃO)

Na primeira série de testes foi avaliado o efeito do extrato aquoso de cunambí sobre a indução ao efeito anestésico do tambaqui. Os peixes (n=4 para cada concentração) foram individualmente expostos a concentrações de 1, 2, 3, e 4 ml/l de extrato aquoso de cunambí e um controle, por dez minutos. Dais quais foram retiradas duas concentrações (1 e 2ml/l) para a simulação do transporte (Figura 5). Os tratamentos apresentaram seis réplicas cada um. Durante a exposição foram observados os diferentes estágios de indução a anestesia, conforme os critérios propostos por Ross & Ross (2008) a seguir:

Figura 5- Teste experimental dos alevinos de tambaqui.



Fonte Valéria Santos

Tabela 1. Estágios de anestesia em peixes.\*

Estágios	Descrição	Comportamento
0	Normal	Reativos a estímulos externos; batimentos operculares normais; reação muscular normal.
1	Sedação leve	Natação Agitada, aumento movimento Opercular, reativo a est. Externos.
2	Sedação profunda	Perda parcial equilíbrio e tônus muscular, queda do movimento Opercular
3	Anestesia profunda	Perda total equilíbrio e tônus muscular, Batimento. Opercular. Lento
4	Colapso medular	Parada da ventilação e morte eventual.

\* Modificada de Ross & Ross 2008.

Após esse período, os peixes foram removidos da solução anestésica para aquários de mesma medida, contendo 3L de água e aeração constante, para o monitoramento da recuperação. Após a recuperação, todos os indivíduos foram monitorados por 96h para observação do número de indivíduos mortos e posterior análise da concentração ideal. O tempo necessário para atingir cada estágio foi aferido com auxílio de um cronômetro digital. O peixe foi considerado recuperado ao retorno de seu equilíbrio normal e com sua natação ativa, sendo o tempo necessário para a recuperação novamente aferido.

## 2.6. SIMULAÇÃO DO TRANSPORTE

Nesta etapa os peixes foram transportados em sistema fechado (Figura 6) das 8:00 às 20:00 h em sacos plásticos de 50 x 85 cm supridos com 10L de água nas concentrações de 1 e 2 ml/l de extrato aquoso de cunambí. Os sacos plásticos foram preenchidos com gás oxigênio e lacrados de acordo com os procedimentos usuais do transporte de peixes adotados no Brasil. A densidade de peixes nas embalagens foi de 50 peixes/L, conforme sugerido por Gomes (2003). Após o tempo do transporte os peixes foram transferidos e liberados individualmente em grupos, de acordo com cada concentração em aquários de 45x30x25, contendo 20L de água com aeração constante sem a adição de extrato aquoso das folhas em estudo, em sistema de circulação fechada de água para a observação do número de mortos conforme as recomendações de Nomura (2008). Nesse período os alevinos foram normalmente alimentados duas vezes por dia com ração comercial com 45% de PB para peixes onívoros. O oxigênio dissolvido (mg/L), temperatura (°C), pH e condutividade ( $\mu\text{S}/\text{cm}$ ) foram aferidos antes e após a simulação do transporte, com o auxílio da sonda multiparâmetros da marca HANNA modelo HI9828.

Figura 6- Simulação do Transporte dos alevinos de tambaqui expostos ao anestésico.



Fonte: Valéria Santos

## 2.7. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para a análise estatística de cada tratamento (quatro tratamentos e seis repetições) analisado, a média dos tempos de indução e recuperação encontrados, em cada ensaio, foram submetidas à análise de variância (ANOVA) e quando significativo, foi aplicado o teste de comparação de médias de Tukey a 5% de probabilidade. Para identificação da concentração ideal para o transporte, recorreu-se ao teste Student- Newman-Keuls (SNK), para a comparação das médias de cada concentração do extrato aquoso utilizado. Todas as análises foram realizadas utilizando o programa Past 2.17b.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.1 Tempo de indução e Recuperação dos alevinos de tambaqui

No ensaio experimental observou-se que os alevinos expostos ao extrato aquoso de cunambí, apresentaram os seguintes comportamentos: quadro de agitação caracterizada pela natação agitada contra a parede do aquário, aumento do batimento opercular, perda do equilíbrio com o ventre voltado para o lado, diminuição dos movimentos operculares e longos eventos de natação errática, caracterizando a perda total do equilíbrio. À medida que ocorria aumento do nível das concentrações, as respostas comportamentais eram mais evidentes.

Apenas para o comportamento os resultados foram semelhantes aos encontrados por Quilliam e Stables (1968), que observaram quadro de agitação hiperatividade seguida de paralisação e morte durante a exposição ao mesmo gênero *Clibadium sylvestre*. No entanto,

neste referido trabalho, não foi observado à morte dos indivíduos durante a exposição ao extrato aquoso de cunambí em todas as concentrações testadas. Segundo os mesmos autores esse quadro pode estar associado à ação icitiotóxica do cunaniol, princípio ativo presente nas folhas do cunambí que atua no sistema nervoso central, inibindo o sistema GABA (Ácido Gam - Aminobutírico). De acordo com Iggo & klemm (1996), o sistema GABA é o principal neurotransmissor inibitório do sistema nervoso central, pois este causa anestesia e redução dos movimentos respiratórios e dos batimentos cardíacos.

Vidal et al. (2006) utilizando o eugenol (óleo de cravo) em juvenis de pintado, *Pseudoplatystoma corruscans* também observaram hiperatividade ao primeiro contato com o anestésico. O mesmo quadro de hiperatividade foi observado em juvenis de piavuçu, *Leporinus macrocephalus* ao serem submetidos ao óleo de cravo (Vidal et al., 2007). Assim como, Grush et al (2004) descreveram o mesmo comportamento em exemplares de *Dani rerio* ao primeiro contato com o óleo de cravo. Segundo Mylonas (2005), esse comportamento está diretamente relacionado ao óleo de cravo, uma vez que exemplares de dourada (*Sparus aurata*) e robalo europeu (*Dicentrarchus labrax*) foram expostos ao solvente etanol contido na diluição do anestésico e os mesmos não apresentaram reações adversas a solução de etanol. Munday e Wilson (1997), realizando estudos comparativos entre o óleo de cravo (eugenol), MS-222, quinaldina, benzocaína e 2-fenoxietanol, observaram reações menos intensa com a utilização do eugenol. De acordo com Collins (1985), o primeiro comportamento observado em peixes submetidos a anestesia geral é a agitação.

Não houve diferença significativa entre as concentrações para o tempo de indução (tabela 2), demonstrando que o tempo de indução do extrato aquoso de cunambí é semelhante estatisticamente para todas as concentrações testadas. Façanha e Gomes (2005) estudando a eficácia do mentol em tabaqui encontraram padrão de influência na indução anestésica semelhante ao do cunambí. Do mesmo modo que Inoe et al (2003), relataram não haver diferença significativa entre o tempo de indução e concentrações a partir de 40mg L<sup>-1</sup> em estudo com diferentes concentrações (18, 20, 30, 40 e 60 mg L<sup>-1</sup>) de óleo de cravo para juvenis de matrixã (*Brycon cephalus*).

Hisano et al (2008), utilizando o óleo de cravo (20, 30, 40, 50 e 60 mg L<sup>-1</sup>) para dourado, *Salminus brasiliensis* verificaram diferença estatística entre o tempo de indução e as concentrações de 20, 30, 40 e 60 mg L<sup>-1</sup>. Assim como Vidal et al. (2006) e Okamoto et al (2009) relataram resultados semelhantes entre o aumento da concentração e o tempo de indução ao anestésico. Neste estudo, observou-se que o extrato aquoso de cunambí provocou perda de equilíbrio e diminuição dos movimentos operculares dos indivíduos a partir da

concentração de 3ml/l. Da mesma forma que Façanha e Gomes (2005), relataram comportamento semelhante em tambaquis expostos ao mentol na concentração de 150 mg L<sup>-1</sup>. De acordo com Roubach e Gomes (2001) cada tipo de anestésico exigem concentrações distintas para atingir o estágio de anestesia desejado.

Para o tempo de recuperação houve diferença significativa entre as concentrações, onde se verificou que aumentando a concentração anestésica, aumenta-se o tempo de recuperação. De acordo com Gomes et al (2001), o tempo de recuperação dos juvenis de tambaqui é influenciado pelo tempo de exposição ao anestésico. Segundo Massone (1999) e Ross e Ross (2009), o aumento do tempo de exposição ao fármaco ou uma maior quantidade dos elementos a ser metabolizados, leva a um aumento do tempo de recuperação dos indivíduos. Assim como ao observado neste trabalho, peixes que alçaram os maiores estágios de anestesia apresentaram os maiores tempos de recuperação, indicando uma relação direta entre o tempo de exposição e o tempo de recuperação. Resultados semelhantes ao deste trabalho foi observado por Park et al. (2009) para anestésiar *Oplegnathus fasciatus*, com óleo de cravo, onde observaram diferença estatística para o tempo de recuperação em todas as concentrações testadas.

Diferente desses resultados Façanha e Gomes (2005), acompanhando a ação anestésica do Mentol para tambaquis, verificaram que a recuperação foi significativamente mais demorada para as menores concentrações testadas. Vidal *et al.* (2007) avaliando a influência do peso de matrinxã e tambaqui expostos a ação anestésica do eugenol constataram não haver diferença significativa tanto para a indução quanto para a recuperação. Com relação à mortalidade, pode-se observar um aumento gradativo do número de peixes mortos com o aumento da concentração do extrato aquoso de cunambí. No controle não foi registrada nenhuma morte durante a toda fase experimental.

Os alevinos de tambaqui não alcançaram todos os estágios propostos na tabela 1. Os dados mostram que as concentrações 1 ml/l e 2ml/l obtiveram os menores tempos de recuperação em relação as demais concentrações. Provavelmente, esse fato ocorreu devido os peixes alcançarem somente o estágio 1 nas concentrações 1ml/l e 2ml/l. Nas maiores concentrações 3ml/l e 4ml/l os peixes alcançaram os maiores tempos de recuperação devido os mesmo atingirem os estágios 2 e 3, respectivamente. Observou-se que quanto menor a concentração do anestésico maior será o tempo de indução e menores serão os tempos de recuperação e os estágios alcançados pelos peixes. Os estágios mencionados encontram-se na tabela 1. Os dados médios referentes ao tempo de indução e recuperação e mortalidade estão na tabela 2 a seguir:

Tabela 2 Média dos tempos de indução, recuperação anestésica e mortalidade dos alevinos de tambaqui durante o ensaio experimental. Letras distintas nas colunas indicam diferenças estatisticamente significativas entre os tempos de amostragem pelo teste de Tukey ( $p > 0,05$ ).

Concentrações (ml/l)	TI (minuto)	TR (minuto)	N° de Indivíduos mortos			
			24hrs	48hrs	72hrs	96hrs
1	6,18 <sup>a</sup>	3,37 <sup>a</sup>	0	0	1	1
2	7,03 <sup>a</sup>	5,19 <sup>b</sup>	0	0	1	2
3	7,32 <sup>a</sup>	9,05 <sup>c</sup>	0	0	1	1
4	6,92 <sup>a</sup>	9,25 <sup>d</sup>	2	1	3	0

\*TI tempo de indução; TR tempo de indução.

Durante o transporte não foi observado mudança de coloração nos alevinos de tambaqui submetidos ao extrato aquoso de cunambí, resultado contrário foi verificado por Bizarro (2011), que observou coloração mais escura em Tilápias do Nilo submetidas ao transporte em contato com o eugenol. Esses resultados indicam que o extrato aquoso de cunambí não interfere na coloração natural dos peixes.

De acordo com a Figura 7 abaixo, foi observada a morte dos indivíduos em diferentes períodos em todas as concentrações testadas, após a indução anestésica do extrato aquoso de cunambí no período experimental. A taxa de mortalidade foi 0% nas concentrações 1, 2 e 3 ml/l, nas primeiras 48 horas. Entretanto, na concentração 4ml/l observou-se a ocorrência da mortalidade nos períodos de 24 a 72 horas, porém não foi observado a morte dos peixes no período de 96 horas. Verificou-se um maior percentual de mortalidade na maior concentração. Waterstrat (1999), utilizando outro anestésico em bagre do canal, *Ictalurus punctatus*, também descreveu mortalidade de 50% dos indivíduos na concentração mais alta de eugenol (300 mg/L<sup>-1</sup>) e apenas 16,7% de mortalidade na menor concentração (100 mg L<sup>-1</sup>). Vidal et al., 2006 utilizando diferentes concentrações (25, 50, 75 e 100 mg/L<sup>-1</sup>) de eugenol em pintado, *Pseudoplatystoma corruscans* observaram sobrevivência de 83,3% dos indivíduos expostos ao anestésico.

Para o tempo de 72 horas foi observado similar porcentagem de mortalidade dos alevinos de tambaqui em todas as concentrações testes, provavelmente nesse período ocorra um valor crítico de estresse, a partir do qual ocorre a morte dos indivíduos. De acordo com King, et al. (2005), a resistência e tolerância aos anestésicos variam de indivíduo para indivíduo, podendo diferentes espécies diferirem muito quanto a utilização de determinado anestésico.

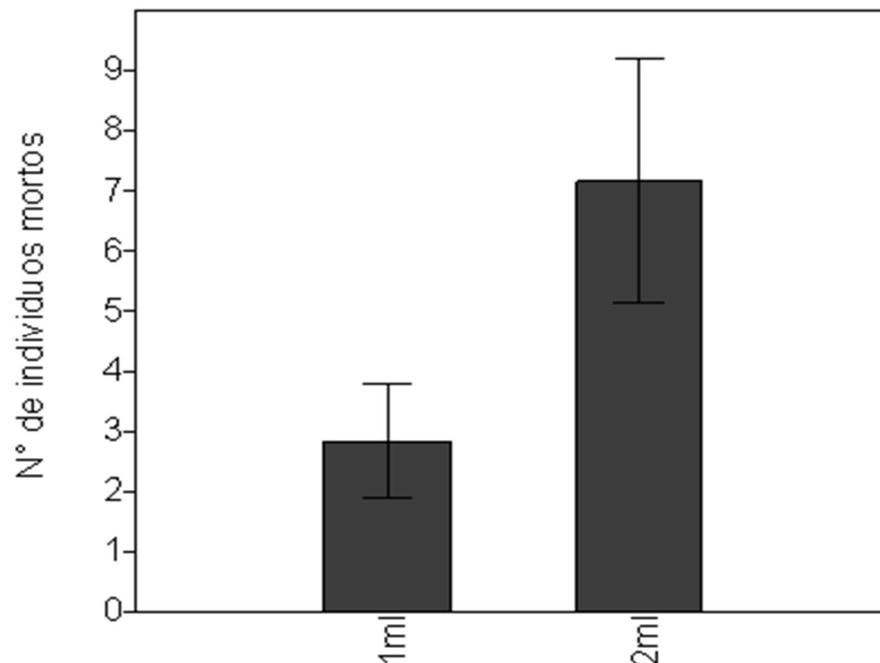
Figura 7 Percentual de mortalidade durante o período experimental de alevinos de tambaqui.

	C1(ml/L)	C2 (ml/L)	C3 (ml/L)	C4 (ml/L)
24 horas	0%	0%	0%	20%
48 horas	0%	0%	0%	10%
72 horas	10%	10%	10%	30%
96 horas	20%	0%	10%	0%

### 3.2 SIMULAÇÃO DE TRANSPORTE DOS ALEVINOS DE TAMBAQUI SUBMETIDOS AO EXTRATO AQUOSO DE CUNAMBÍ

Não houve mortalidade imediata durante o período de transporte em ambos os tratamentos avaliados. Entretanto, após o transporte, a mortalidade foi maior ( $7,16 \pm 4,95$  indivíduos) na concentração 2 ml/l do que na concentração 1ml/l ( $2,83 \pm 2,32$  indivíduos) (Figura 8).

Figura 8 Número de indivíduos mortos após o transporte de doze (12) horas com extrato aquoso de cunambí.



O extrato aquoso de cunambí mostrou-se eficaz de acordo com o teste t, para a anestesia de tambaqui, sendo a concentração de 1ml/l suficiente para a indução anestésica de alevinos para o transporte com tempo de 12 horas de duração. Uma vez que induz a uma leve sedação, marcada por movimentos lentos aos estímulos externos e uma menor taxa de indivíduos mortos.

De acordo com Kubitzka (1997), ao longo do transporte os anestésicos devem ser usados em doses sedativas moderadas, ou seja, doses que não façam o peixe perder por

completo o equilíbrio, mas proporcione apenas uma leve redução no batimento opercular e faça com que os peixes apresentem pouca reação ao toque ou a estímulos visuais. Dessa forma, os dados mostram que na concentração 1ml/l, do extrato aquoso de cunambí é eficaz para minimizar a mortalidade de alevinos de tambaqui durante o transporte, de forma viável e segura. Contudo, é necessário mais estudos para verificar a anestesia de peixes de diferentes maturidades de forma segura, e sua eficácia em diversas concentrações, assim como a dose letal (DL) para vários níveis de toxicidade acima do recomendado nesse trabalho. Esses dados fornecem informações para outros estudos relacionados ao cunambí, objetivando melhorar as condições de transporte dos alevinos de tambaqui.

Os mecanismos fisiológicos envolvidos na ação anestésica do extrato aquoso de cunambí na indução anestésica do tambaqui ainda não foram completamente entendidos, assim como os efeitos tóxicos resultantes da exposição e manuseio por períodos prolongados ao cunambí. De acordo com Mascaro et al. (1998), peixes submetidos ao contato com o princípio ativo dessa planta por índios e caboclos brasileiros se apresenta apta ao consumo, sem que sua carne ofereça risco algum de intoxicação alimentar ao consumidor.

Os valores médios dos parâmetros físico-químicos da água obtidos durante a simulação do transporte encontram-se na tabela 2. Os parâmetros de pH e temperatura estão de acordo com os recomendados por Gomes (2003) para o transporte de tambaqui. No entanto, o oxigênio dissolvido não está de acordo com os recomendados pelo autor, provavelmente os valores baixos podem estar relacionados a água, oriunda de poço artesiano. Contudo Wurts (1995) observou algumas das vantagens da utilização dos anestésicos, tais como a redução do metabolismo dos peixes, do estímulo visual, do consumo de oxigênio e excreção de amônia. Portanto, os baixos níveis de oxigênio dissolvido encontrados neste trabalho provavelmente não interferiram nos resultados obtidos.

Dentre os parâmetros de qualidade da água, verificou-se que ao final do transporte a variável oxigênio dissolvido e pH foram significativamente alterados, apresentando leve aumento em ambos os tratamentos em comparação ao controle, possivelmente o aumento do pH tenha sido ocasionado pelo maior tempo em que o animal permanecia nessa água sem renovação e assim o aumento de gás carbônico, quanto ao oxigênio o aumento poder estar relacionado a influência do movimento mecânico durante o transporte. As demais variáveis temperatura e condutividade não foram significativamente alteradas após o transporte em ambos os tratamentos avaliados.

De acordo com Vieira (2003), para espécies tropicais a água utilizada para o transporte deve proporcionar a sobrevivência dos peixes transportados, estar de acordo com a densidade

de animais transportados, ter o pH e temperatura adequadas livres de substâncias químicas nocivas aos peixes. Segundo Pedrazinne et al. (2007), alguns fatores limitantes podem influenciar antes, durante e após transporte dos peixes, tais como tempo de deslocamento, tipo de embalagem, captura, espera pelo transporte e o controle da qualidade da água. Verificou-se que a condutividade aumentou com o aumento da concentração do anestésico, indicando a presença de sais no extrato aquoso da planta em estudo. O resultado dos parâmetros sugerem que o principal responsável pela indução e sobrevivência dos alevinos de tambaqui é o extrato aquoso de cunambí.

Tabela 3 Valores médias do oxigênio dissolvido, temperatura, condutividade e pH inicial e final das concentrações utilizadas no transporte. Letras distintas nas colunas indicam diferenças estatisticamente significativas entre os tempos de amostragem pelo teste t student ( $p > 0,05$ ).

Concentrações (g/L)	ODI (g/l)	ODF (mg/l)	TI (°C)	TF (°C)	Cond. I ( $\mu\text{S/cm}$ )	Cond.F ( $\mu\text{S/cm}$ )	pH i	pH f
1 ml	2,3 $\pm$ 4,86a	2,75 $\pm$ 0,054a	25,62 $\pm$ 0a	26,38 $\pm$ 0,32a	0,017 $\pm$ 0a	0,019 $\pm$ 0,001a	5,22 $\pm$ 0a	5,31 $\pm$ 0,16b
2 ml	2,03 $\pm$ 4,86a	2,8 $\pm$ 0,052a	25,62 $\pm$ 0a	26,51 $\pm$ 0,21a	0,017 $\pm$ 0a	0,02 $\pm$ 0,01a	5,22 $\pm$ 0a	5,38 $\pm$ 0,18b
Controle	2,3a	1,8b	27,6a	25,52b	0,17a	0,02 <sup>a</sup>	5,22 a	4,8 <sup>a</sup>

\* ODI: Oxigênio dissolvido inicial; ODF: Oxigênio dissolvido Final; TI: Temperatura Inicial; TF: Temperatura Final; Cond. I: Condutividade Inicial; Cond.F: condutividade Final; pHi: pH inicial; pHF: pH Final.

#### 4. CONCLUSÃO

- A concentração de 1 ml/l de extrato aquoso de cunambí é eficiente para diminuir a maioria das respostas fisiológicas do estresse e mortalidade em tambaquis durante o transporte de doze horas em sistema fechado. Sendo a imersão de 10 minutos foi suficiente para sedar os peixes.
- Os parâmetros físico-químicos não influenciaram no comportamento anestésico dos peixes. Não houve alteração considerável dos parâmetros após o transporte com a adição do extrato aquoso de cunambi na água.

## REFERENCIAS

- BIZARRO, Yvonaldo Wladimir Saldanha. ASSOCIAÇÃO DO ANESTESICO ÓLEO-DE-CRAVO (Eugenol), Benzocaína e Cloreto de sódio em diferentes concentrações para Tilápia do Nilo submetidos a simulação de transporte. Tese de dissertação. Brasília (2011), UNB.
- BROWN, L. A. Anesthesia and restraint. In: **Fish Medicine** (STOSKOPF, M. K. ed.), p. 79-90. Saunders, Philadelphia, 1993.
- COYLE, S.D. et al. Anesthetics in aquaculture. 2005.
- COOKE, S. J.; SUSKI, C. D.; OSTRAND, K. G.; TUFTS, B. L.; WAHL, D. H. Behavioral and physiological assessment of low concentrations of clove oil anaesthetic for handling and transporting largemouth bass (*Micropterus salmoides*). **Aquaculture**, v. 239, p. 509–529, 2004.
- COLLINS, V.J. **Princípios de anesthesiologia**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1985. 1194p.
- CORRÊA, M.P. **Dicionário das plantas úteis do Brasil**. Colaboração de Leonan de Azeredo Penna. Rio de Janeiro: Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal, 1984.
- COSTA, Elson A. et al. **Behavioral effects of a neurotoxic compound isolated from *Clibadium surinamense* L(Asteraceae)**. Neurotoxicology and Teratology (2006), 28(3), 349-353.
- CRAVO, M. da S., VIÉGAS, I. de J. M., BRASIL, E. C. Recomendação de adubação e calagem para o Estado do Pará. Embrapa Amazônia Oriental. 1 ed., 262 p., 2010.
- EMBRAPA. **Sistema Brasileiro de Classificação de solos**. 2ed. Rio de Janeiro, Embrapa solos, 2006. 306 p.
- 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.
- GOMES, L.C.; CHIPARI-GOMES, A.R.; LOPES, N.P.; ROUBACH, R.; ARAUJOLIMA, C.A.R.M. Efficacy of benzocaine as an anesthetic in juvenile tambaqui *Colossoma macropomum*. **Journal of the World Aquaculture Society**, v.32, p.426- 431, 2001.
- GOMES, LEVY DE CARVALHO. **Protocolo para o transporte de tambaqui (*Colossoma macropomum*) vivo**. Manaus: Embrapa Amazônia oriental. Documentos; 27, 2003. 20p. ISSN 1517-3135.
- GREUTER, W. 1998. Two proposals on Art. 15, and report of the Standing Committee on Lists of Names in Current Use (proposals 86-87). In *Proposals to conserve or reject* (D.H. Nicolson, ed.). *Taxon* 47:895-898.
- GRUSH, J.; NOAKES, D.L.G.; MOCCIA, R.D. The efficacy of clove oil as an anesthetic for the zebrafish, *Danio rerio* (Hamilton). **Zebrafish**, v.1, p.46-53, 2004.

HISANO, H. ET AL. Tempo de indução e de recuperação de dourados *Salminus brasiliensis* (Cuvier, 1816) submetidos a diferentes concentrações de óleo de cravo *Eugenia* sp.. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v. 30, p. 303-307, 2008.

IGGO, A.; KLEMM, W.R. Nervos, sinapses e reflexos. In: SWENSON, M.J.; REECE, W.O. **Dukes: fisiologia dos animais domésticos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996. p.699-713.

INOE, L.A.K.A.; NETO, C. S.; MORAES, G. Clove oil anaesthetic for juveniles of matrinxã *Brycon cephalus* (Gunther, 1869). **Ciencia Rural**, v. 33, n. 5, . 943-947, 2003.

KING, W. V.; HOOPER, B.; HILLSGROVE, S.; BENTON, C.; BERLINSKY, D. L. The use of clove oil, metomidate, tricaine methanesulphonate and 2- phenoxyethanol for inducing anaesthesia and their effect on the cortisol stress response in black sea bass (*Centropristis striata* L.). **Aquaculture Research**, v. 36, p. 1442- 1449, 2005.

KUBTIZA, F. **Transporte de peixes vivos**. Panorama da aquicultura, Rio de Janeiro, v.7.p. 20- 26, 1997.

MATTSON, N.S.; RIPPLE, T.H. Metomidate, a better anesthetic for cod (*Gadus morhua*) in comparison with benzocaine, MS-222, chlorobutanol, and phenoxyethanol. **Aquaculture**, v.83, p.89-94, 1989.

MASCARO, U. C. P. RODRIGUES, L. A., BASTOS, J. K., SANTOS, E., CHAVES, J. P. C. Valores de DL50 em peixes e no rato tratados com pó de raízes de *Derris* spp e suas implicações ecotoxicológicas. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, V. 18, p. 53-56,1998.

MASSONE, F. **Anestesiologia Veterinaria – Farmacologia e tecnicas**, 3, Ed., Rio de Janeiro; Guanabara Koogan, 1999. 225 p.

MYLONAS, C. C; CARDINALETTI, G.; SIGELAK, 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**, Amsterdam , v.246, p.467-481, 2005.

MELLO, R. A. Avaliação de 2-Fenoxietanol e Mentol em juvenis de Tilápias, *Oreochromis niloticus*. Dissertação mestrado. Lavras MG, 2010.

MUNDAY, P. L.; WILSON, S. K. Comparative efficacy of clove oil and other chemicals in anaesthetization of *Pomacentrus amboinesnsis*, a coral reef fish. **Journal of Fish Biology**, Oxford, v. 51. p. 931- 938, 1997.

NOVAIS, R. F. Fósforo. In: NOVAIS, R. F. (editor). **Fertilidade do solo**. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, Viçosa, 2007. 1017 p.

NOMURA, M. **The stress of moving out: physiological and behavioural effects of commercial transport on atlantic salmon (*Salmo salar*) smolts**, 96p. The University of British Columbia, 2008.

- OKAMOTO, M. H. Benzocaína e eugenol como anestésicos para juvenis do pampo *Trachinotus marginatus*. Ver. **Cienc. Rural** vol. 39 n°. 3 Santa Maria RS, 2009.
- PEDRAZZANI, A. S. et al. M. Senciencia e bem-estar de peixes: Uma visão de futuro do mercado consumidor. **Panorama da aquicultura**: 24- 29. 2007.
- QUILLIAM, J. P.; STABLES, R. **The effects of cunaniol a polyacetylenic alcohol isolated from the plant *Clibadium sylvestre*, on piscine behavior**. British Journal Pharmacology, v. 34, p. 679-680, 1968.
- ROUBACH, R.; GOMES, L. C. O uso de anestésicos durante o manejo de peixes. **Panorama da Aqüicultura**, v. 11, n. 66, p. 37-40, 2001.
- ROSS, L. G. & ROSS, B. **Anaesthetic and sedative techniques for aquatic animais**, 3rd ed Blackwell, Lond, UK. 222 p., 2009.
- ROSS, L. G.; ROSS, B. **Anaesthetic and sedative techniques for aquatic animals**. 3rd ed. Oxford: Blackwell Science, 2008.
- SILVA, G. R.; SILVA JR, M. L. da; MELO, V. S. de. Efeitos de diferentes usos da terra sobre as características químicas de um latossolo amarelo do estado do Pará. **Acta Amazônica**. v. 36, p. 151-158, 2005.
- TOMÉ JR., J. B. Manual para interpretação de análise de solo. **Agropecuária**, Guaíba, 1997. 247p.
- VASCONCELOS, L. G. T. R.; KATO, O. R.; VASCONCELOS, S. S. Matéria orgânica leve do solo em sistema agroflorestral de corte e trituração sob manejo de capoeira. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v. 47, p. 1142-1149, 2012.
- VIDAL, L. V. O.. Concentração de eugenol para anestesia profunda e toxicidade aguda em juvenis de piavuçu (*Leporinus macrocephalus*). *Acta Scientiarum Biological Sciences*, v. 29, p. 357-362, 2007.
- VIDAL, L. V. O.; et al. Eugenol com anestésico de tilapia-do-nilo. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*, v. 43, n. 8, p. 1069-1074, 2008.
- VIDAL, L.V.O.; ALBINATI, R.C.B.; ALBINATI, A.C.L.; MECEDO, G.R. Utilização do eugenol como anestésico para o manejo de juvenil de pintado (*Pseudoplatystoma coruscans*). **Acta Scientiarum Biological Science**, v.28, n.3, p.257-279, 2006.
- VIEIRA, R. H. S. F. Microbiologia, higiene e qualidade do pescado: teoria e prática, São Paulo: Varela, 370 p. 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.
- WURTS, W. A. Using salt to reduce handling stress in channel catfish. **Word Aquaculture**, v. 26, p. 80-81, 1995.

Artigo 3 Indução anestésica do extrato aquoso de cunambí, *Clibadium surinamense* linn para a realização de biometrias em tambaquis, *colossoma macropomum*

## RESUMO

Foi avaliada a eficiência do cunambí, *Clibadium surinamense* como anestésico durante a biometria em juvenis de tambaqui. Para tanto foram avaliadas três concentrações de extrato aquoso da planta (0,5, 1,5 e 2,5 ml/L). Foram expostos individualmente 3 peixes ( $17,24\text{g} \pm 14,01$  e  $9,18 \pm 0,91\text{cm}$ ) para cada tratamento e observados o tempo de indução e recuperação anestésica. Após o tempo de anestesia os peixes foram pesados em uma balança analítica e colocados aquários livres da solução anestésica até retornarem a posição normal de natação. Após a recuperação, todos os indivíduos foram monitorados por 96h para observação do número de indivíduos mortos e posterior análise da concentração ideal. A concentração de 0,5 ml/L foi o tratamento que necessitou de maior tempo para atingir o estágio de indução desejado de sedação profunda (7,4 minutos), contudo houve diferença significativa em relação às concentrações de 1,5 e 2,5 ml/L. Entretanto, a concentração de 0,5 ml/L é a ideal para o procedimento de biometria e breve manejo, pois apesar da demora em induzir o peixe aos diferentes estágios de anestesia, provoca uma rápida recuperação (8,62 minutos) em relação a outros tratamentos 1,5 ml/L (16,6 minutos) e 2,5 ml/L (23,7 min). Os resultados obtidos sugerem que a concentração ideal de extrato aquoso de cunambí para realização de uma biometria é de 0,5 ml/L.

**Palavra chave:** Cunaniol, estresse, manejo.

### ABSTRAT

The cunambí efficiency was evaluated *Clibadium surinamense* as an anesthetic for biometrics in tambaqui juveniles. Therefore, we evaluated three aqueous plant extract concentrations (0.5, 1.5 and 2.5 ml / L). Individually they were exposed 3 fish ( $17,24\text{g} \pm 9.18$  and  $14.01 \pm 0,91\text{cm}$ ) for each treatment and observed the induction time, and anesthetic recovery. After the anesthesia time the fish were weighed on an analytical balance and placed aquariums free of the anesthetic to return to normal swimming position. After recovery, all individuals were monitored for 96 hours for observation of the number of dead individuals and subsequent analysis of the ideal concentration. The concentration of 0.5ml / L the treatment has been required more time to reach the desired induction stage of deep sedation (7.4 minutes), but there was significant difference compared to 1.5 and 2.5 concentrations of mL / L. However, the concentration of 0.5ml / L is ideal for the biometric management procedure and brief, because in spite of the delay in inducing fish to the different stages of anesthesia, causes a rapid recovery (8.62 minutes) in relation to other treatments 1.5 ml / L (16.6 minutes) and 2.5 ml / L (23.7 min). The results suggest that the optimal concentration of aqueous extract of cunambí to perform a biometrics is 0.5 ml / L.

**Keyword:** Cunaniol, stress management.

## 1. INTRODUÇÃO

Na piscicultura o uso de anestésicos é indispensável para a realização de biometrias. Esse procedimento pode causar danos, como ferimentos, perda de escamas, estresse e até a morte dos peixes utilizados nesse processo, de acordo com Vidal et al. 2008 praticas intensas de manejo provocam uma serie de fatores estressantes aos peixes. Assim, a utilização de substancias anestésicas são frequentemente utilizadas para reduzir a agitação dos peixes, e por consequência facilitar o trabalho com os animais durante o manejo, além de diminuir o estresse causado pela manipulação dos peixes (INOUE et al. 2005).

As substancias químicas mais utilizadas para as práticas de manejo são MS-222, o 2-fenoxietanol e a quinaldina, no entanto são substancias caras e dificultam a aquisição por pequenos produtores. Além disso, apenas a MS-222 é aprovado pelo FDA (Food and Drug Administration). Deste modo, a busca por anestésicos de origem natural vem aumentando a exemplo do cunambí, *C. surinamense* L, que surge como uma alternativa a baixo custo para minimizar o estresse e mortalidade durante a biometria. Assim, estudos que visem a utilização de substancias anestésicas naturais servirão de subsidio para as autoridades responsáveis utilizarem como suporte para a regulamentação do uso de substancias naturais no Brasil.

O cunambí é uma planta arbórea bastante encontrada na região Norte e muito utilizada pela população ribeirinha por facilitar a pesca em rios e igarapés. Costa et al. (2006) relataram ainda que o cunaniol, é o principal composto ativo presente nas folhas de cunambí.

Dessa forma, esse será o primeiro estudo referente a utilização de planta endêmica no manejo de tambaqui na região Norte do Pará e tem como objetivo avaliar a eficácia do extrato aquoso do cunambí como substancia anestésica durante a realização de biometria em juvenis de tambaqui.

## 2. MATERIAL E METODOS

O experimento foi desenvolvido no Laboratório de Aquicultura Tropical da Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA), Belém, Pará, no período de setembro de 2012. Para tanto, foram utilizados 27 juvenis de tambaqui com peso médio de  $17,24g \pm 14,01$  e comprimento médio de  $9,18 \pm 0,91$ cm provenientes da Estação de Piscicultura da SEPAQ (Secretária de Estado de Pesca e Aquicultura) localizada no município de Terra Alta, no Estado do Pará.

Os animais foram mantidos até a fase de juvenil em caixas de polietileno com capacidade para 150L e alimentados duas vezes ao dia com ração comercial (45% PB) para a

posterior fase experimental. A alimentação foi suspensa vinte e quatro horas antes do início do experimento.

Para o preparo do extrato aquoso as folhas frescas de cunambí foram lavadas com água corrente, secas em papel toalha e cortadas com tesoura em pedaços pequenos para a obtenção 5g do material botânico. Em seguida as folhas foram maceradas com 10 ml de água para cada 5g de folhas cortadas, e filtradas com filtro de papel comum. O material botânico foi imediatamente utilizado em aquários com volume de 30L, sendo utilizado 20L de água.

Visando determinar a influência das diferentes concentrações do extrato aquoso de cunambí na indução anestésica e posterior recuperação, foram utilizados 3 juvenis de tambaqui ( $n=3$  para cada repetição) expostos individualmente em concentrações de 0,5, 1,5, e 2,5 ml/L de extrato aquoso de cunambí por dez minutos. Durante a exposição à solução anestésica, foram observados os diferentes estágios de anestesia conforme os critérios propostos por Ross & Ross (2008). Após o tempo de anestesia os peixes foram pesados em uma balança analítica e depois da pesagem colocados no aquário de recuperação até retornarem a posição normal de natação para o monitoramento da recuperação. Após a recuperação, todos os indivíduos foram monitorados por 96h para observação do número de indivíduos mortos e posterior análise da concentração ideal. O tempo necessário para atingir cada estágio foi aferido com auxílio de um cronômetro digital. A descrição de cada estágio encontra-se na tabela 1.

Para a análise estatística de cada tratamento (três tratamentos e três repetições) foram analisadas, as médias dos tempos de indução e recuperação encontradas, em cada concentração. Os dados foram submetidos à análise de variância (fator único - ANOVA) e quando significativo, foi aplicado o teste de comparação de médias de Tukey a 5% de probabilidade. Para identificação da concentração ideal para a biometria, recorreu-se ao teste Student- Newman-Keuls (SNK), para a comparação das médias de cada concentração do extrato aquoso utilizado.

Tabela 1 Estágios de anestesia em peixes.

Estágios	Descrição	Comportamento
0	Normal	Reativos a estímulos externos; batimentos operculares normais; reação muscular normal.
1	Sedação leve	Natação Agitada, aumento movimento Opercular, reativo a est. Externos.
2	Sedação profunda	Perda parcial equilíbrio e tônus muscular, queda do movimento. Opercular
3	Anestesia profunda	Perda total equilíbrio e tônus muscular, Batimento. Opercular. Lento
4	Colapso medular	Parada da ventilação e morte eventual.

\* Modificada de Ross & Ross 2008.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 Indução e recuperação anestésica dos juvenis de tambaqui

Durante a indução anestésica foram observados os seguintes comportamentos ao primeiro contato com o anestésico: hiperatividade, natação agitada contra a parede do aquário, aumento dos movimentos operculares, natação rápida em curto período, diminuição do ritmo, perda de equilíbrio com o ventre voltado para o lado, e reação a estímulos externos com batimento opercular lento. Não foi registrada nenhuma morte durante o período experimental. Assim como Façanha & Gomes (2005) utilizando outro anestésico observaram resultados semelhantes ao deste trabalho, em que verificaram que não ocorreu mortalidade nas concentrações testadas (50, 100, 150, 200 e 250 mg/L de mentol). Assim como Inoue et al. (2003) não observaram mortalidade dos juvenis de matrinxã, *Brycon cephalus* expostos as diferentes concentrações de óleo de cravo (18, 20, 30, 40, 50, 60, 70 mg/L). Dessa forma, o cunambí apresenta boa margem de segurança para os juvenis de tambaqui durante um breve manejo, a exemplo da biometria.

Os dados referentes ao tempo de indução anestésica e de recuperação dos juvenis de tambaqui expostos a diferentes concentrações de extrato aquoso de cunambí encontram-se na Tabela 2.

Nas maiores concentrações (1,5 e 2,5 ml), a velocidade das respostas comportamentais foram mais evidentes. Comportamentos semelhantes foram observados por Quilliam & Stables (1968), peixes que tiveram contato com a isca de folhas de Cunambí apresentam

quadro de agitação e hiperatividade seguida de paralisação e morte. De acordo com os mesmos autores, a ação icitiotóxica do cunaniol é a principal substância causadora do comportamento anestésico dos peixes, pois atua de forma inibitória do Sistema GABA (Ácido Gam - Aminobutírico) o sistema GABA é o principal neurotransmissor inibitório do sistema nervoso central, pois este causa anestesia e redução dos movimentos respiratórios e dos batimentos cardíacos. (IGGO & KLEMM (1996)).

Tabela 2 Tempo médio dos estágios de anestesia e recuperação (em minuto) dos alevinos de tambaqui expostos a diferentes concentrações de extrato aquoso de cunambí. Médias seguidas pela mesma letra em coluna diferem entre si pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

Concentração (ml/L)	Estágio 1	Estágio 2	Estágio 3	Estágio 4	Recuperação
0,5 ml	5,1a ± 2,25	7,4a±1,67	*	*	8,62a±0,43
1,5 ml	2,2b ± 0,59	3,5b±1,2	6,3b±1,16	*	16,6b±0,97
2,5 ml	1,2b±1,68	4,0b±1,01	7,8b±1,13	*	23,7c±2,72

\* Estágio não alcançado

Os peixes expostos às três concentrações de extrato aquoso de cunambí não alcançaram todos os estágios de anestesia durante o tempo estimado de 10 minutos. Segundo King et al. (2005), a resistência e tolerância aos anestésicos variam de indivíduo para indivíduo, podendo espécies afins diferir muito quanto a utilização de determinado anestésico. No entanto, para o que se pretende não houve a necessidade do aumento das concentrações, pois para a etapa de manejo o estágio 2 (sedação profunda) é o mais adequado, uma vez que o peixe fica imóvel devido a perda parcial de equilíbrio e tônus muscular, facilitando seu manuseio durante todo o processo.

A concentração de 0,5 ml/L é a ideal para o procedimento de biometria e breve manejo, pois apesar da demora em induzir o peixe aos diferentes estágios de anestesia, provoca uma rápida recuperação (8,62 minutos) em relação a outros tratamentos, além de induzir o peixe ao estágio de sedação profunda, caracterizada pela perda parcial de equilíbrio e tônus muscular.

A concentração de 0,5 ml/L foi o tratamento que necessitou de maior tempo para atingir o estágio de indução desejado de sedação profunda (Média de 7,4 minutos). Contudo, houve diferença significativa em relação às concentrações de 1,5 e 2,5 ml/L. De acordo com Park et al. (2008) quanto maior a concentração utilizada, menor será o tempo para indução

anestesia, ocorrendo uma relação inversa entre esse tempo e a recuperação. Moreira et al. (2010), utilizando o eugenol em diferentes concentrações de 30, 60, 120, 180, 240 e 300 mg/L) anestesiaram adultos de tilápias do Nilo, *Oreochromis niloticus*, em 3,43 minutos. Façanha & Gomes (2005), avaliando a eficácia do mentol (50, 100, 150, 200 e 250 mg/L) como anestésico para tambaquis observaram haver semelhança entre 50 e 100 mg/L para este estágio. No entanto, de acordo com os autores a concentração de 100mg/L é a ideal para biometrias, já que promove uma recuperação rápida (5minutos).

Peixes submetidos às concentrações de 1,5 e 2,5 ml alcançaram até o estágio 3 (anestesia profunda), no entanto o tempo de recuperação foi maior. Contudo, isto pode ser atribuído ao fato de que, quanto maior a concentração, maior o tempo necessário à recuperação dos peixes. Esse fato foi observado na concentração mínima (0,5 ml/L) que resultou em um menor tempo necessário a recuperação, ou seja, quanto maior a concentração do fármaco, maior será o tempo necessário para metabolizar os elementos presentes no anestésico, assim o tempo de recuperação dos peixes será maior. Fato contrário foi observado por Massone (1999) e Ross & Ross (2009), em que verificaram que quanto maior o tempo de exposição ao fármaco, maior será a quantidade dos elementos a ser metabolizado, com isso o tempo de recuperação dos indivíduos é maior.

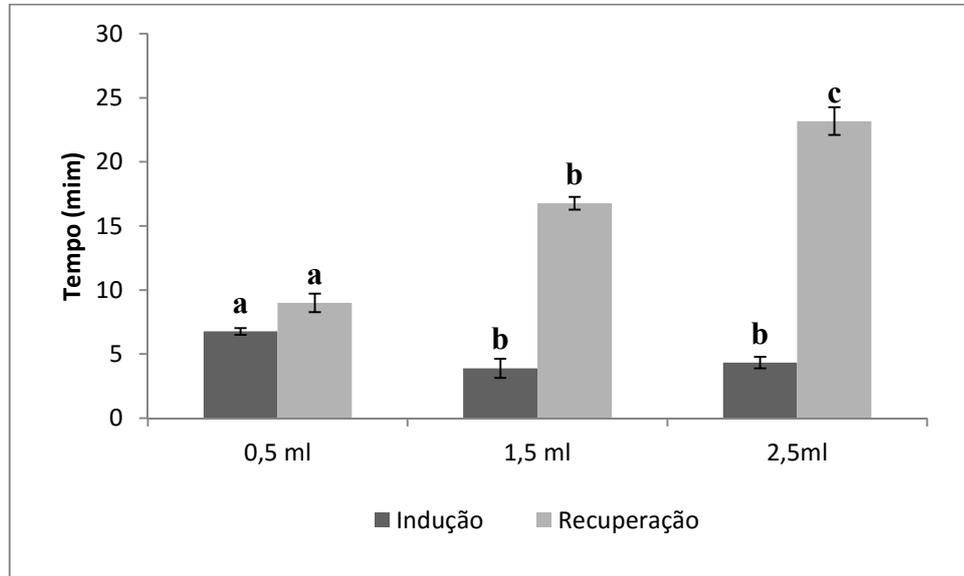
Segundo Park et al. (2009), o tempo ideal para levar o peixe a anestesia deve ser menor ou igual a 3 minutos e permitir uma recuperação em um intervalo de tempo máximo de 10 minutos para reduzir os inúmeros impactos ocasionados pelo manejo. No presente trabalho, os resultados encontrados estão acima dos recomendados para a indução anestésica, no entanto a recuperação encontra-se no intervalo sugerido pelos autores citados.

Quanto ao tempo de recuperação os resultados são significativos e diferentes entre si. Os peixes anestesiados na concentração de 0,5 ml/L retornaram mais rápido á posição normal. Resultados semelhantes foram encontrados por Park et al. (2009), avaliando o efeito do óleo de cravo em rock bream, *Oplegnathus fasciatus* ( $139,5 \pm 39,24$  g;  $14,8 \pm 1,66$  cm), onde observaram diferença estatística para o tempo de recuperação nas concentrações de 50, 75, 100, 125 e 150 mg L<sup>-1</sup>, ocorrendo diferença entre todas as concentrações testadas.

Nos tratamentos de 1,5 e 2,5 ml/L, verificou-se que em peixes menores, o tempo necessário à indução e recuperação foram maiores. Roubach et al. (2002) utilizando eugenol constataram que em peixes menores a indução anestésica é mais rápida, levando a um maior tempo necessário a recuperação. Olsen et al. (1995), também observaram que a eficácia do anestésico geralmente diminui com o tamanho do peixe, assim em indivíduos menores a

indução anestésica é mais lenta do que nos peixes maiores. O tempo de indução e recuperação encontra-se na Figura 2 abaixo.

Figura 2 Tempo de indução e recuperação anestésica dos juvenis de tambaqui expostos ao extrato aquoso de cunambí.



Embora o cunaniol seja proveniente de uma planta bastante utilizada pela população ribeirinha na Amazônia, ainda não se sabe sobre a existência de resíduos na carcaça e alteração do sabor da carne dos peixes, assim como as alterações fisiológicas dos peixes submetidos ao extrato aquoso de cunambí. Sendo assim, outras pesquisas devem ser realizadas para avaliar o efeito acumulativo ou não do cunaniol. Entretanto, Duke e Vasquez, (1994) relatam que esse princípio ativo é tóxico para humanos. Do mesmo modo, que não há relatos de efeitos tóxicos em humanos que consumiram peixe coletados usando o cunambí, e ambos os consumidores têm consumido peixes coletados desta maneira sem mostrar efeitos imediatos perceptíveis.

Os mecanismos fisiológicos envolvidos na ação anestésica do extrato aquoso de cunambí na indução anestésica do tambaqui ainda não foram completamente entendidos, assim como os efeitos tóxicos resultantes da exposição e manuseio por períodos prolongados ao cunambí.

O extrato aquoso de cunambí mostrou-se eficaz de acordo com o teste t, para a anestesia de tambaqui, sendo a concentração de 0,5 m/L suficiente para a indução anestésica de juvenis durante a biometria.

Os parâmetros físico-químicos oxigênio dissolvido, condutividade e pH foram significativamente alterados em relação as concentrações testadas, a exceção da temperatura que não houve variação durante o período experimental, mantendo-se dentro da faixa indicada para a espécie.

Entretanto, a estreita variação dos níveis de oxigênio pode ser explicada pela utilização de bastão de vidro para homogeneização da substancia na água dos aquários durante a fase experimental. Contudo, o oxigênio dissolvido estão abaixo do recomendado por Boyd (1990) para o tambaqui, provavelmente esses valores podem estar relacionados a água oriunda de poço artesiano.

O pH variou de 4,6 a 6,1 ao longo do estudo, podendo ser aceito como adequado ao cultivo de peixes. Entretanto, as recomendações para a variação deste parâmetro não chegam a um consenso entre os autores. Para Ceccarelli et al. (2000) o pH ótimo para as espécies tropicais esta entre o intervalo de 7 a 8, outros autores recomendam um intervalo mais amplo de 6 a 9,5 (KUBITZA, 2003). Porém, peixes cultivados em pH variando de 4,9 a 8,3 alcançaram bons resultados de acordo, com Merola e Souza (1988), Resende et al. (1985) e Graef et al. (1987), sugerindo que estes são capazes de suportar certa variação no pH da água com a adição do anestésico.

Não foram registradas mortalidades dos indivíduos pelos baixos níveis de oxigênio e pH, o que confirma que provavelmente os parâmetros não influenciaram no comportamento dos peixes durante a exposição ao anestésico. Os valores médios dos parâmetros físico-químicos da água obtidos durante o período experimental encontram-se na tabela 3.

Tabela 3 Valores médios do oxigênio dissolvido, temperatura, condutividade e pH inicial e final das concentrações utilizadas na biometria. Letras distintas nas linhas indicam diferenças estatisticamente significativas entre os tempos de amostragem pelo teste t student ( $p > 0,05$ ).

Concentrações (g/L)	ODI (g/l)	ODF (mg/l)	TI (°C)	TF (°C)	Cond. i ( $\mu$ S/cm)	Cond. f ( $\mu$ S/cm)	pH i	pH f
0,5 ml	1,9 <sup>a</sup>	2,6 <sup>b</sup>	28,6 <sup>a</sup>	28,5 <sup>b</sup>	0,021a	0,041b	4,6a	5,1b
1,5 ml	1,7 <sup>a</sup>	2,7 <sup>b</sup>	28,6 <sup>a</sup>	28,6 <sup>b</sup>	0,022a	0,081b	4,6a	5,7b
2,5 ml	1,9 <sup>a</sup>	3,7 <sup>b</sup>	28,0a	29,0b	0,022a	0,110b	4,5 <sup>a</sup>	6,1b

\* ODI: Oxigênio dissolvido inicial; ODF: Oxigênio dissolvido Final; TI: Temperatura Inicial; TF: Temperatura Final; Cond. I: Condutividade Inicial; Cond.F: condutividade Final; pH I: ph inicial; pH F: pH Final.

#### **4. CONCLUSÃO**

O extrato aquoso de cunambi é um eficiente anestésico para juvenis de tambaqui, sendo a concentração de 0,5 ml/L considerada ideal para a realização de biometria, pois favorece uma rápida recuperação dos animais após o manuseio em relação aos outras concentrações.

## REFERENCIAS

- BOYD, C.E. Water quality in ponds for Aquaculture. First printing. Alabama: **Brimingham Publishing Co**,1990. 482 p.
- CECCARELLI, P. S.; SENHORINI, J. A.; VOLPATO, G. **Dicas em piscicultura**. Botucatu, SP: Santana, 2000, p. 247.
- COSTA, Elson A. et al. **Behavioral effects of a neurotoxic compound isolated from *Clibadium surinamense L*(Asteraceae)**. Neurotoxicology and Teratology (2006), 28(3), 349-353.
- 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.
- GRAEF, E. W.; RESENDE, E. K.; PETRY, P.; STORI FILHO, A. Policultivo de Matrinxã (*Brycon sp.*) e Jaraqui (*Semaprochilodus sp.*) em pequenas represas. **Acta Amazônica**, Manaus, v. 16/17, nº único, p. 33-42, 1987.
- IGGO, A.; KLEMM, W.R. **Nervos, sinapses e reflexos. In: SWENSON, M.J.; REECE, W.O. Dukes: fisiologia dos animais domésticos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996. p.699-713.
- INOUE, L.A.K.A.; SANTOS NETO, C.; MORAES, G. Clove oil as anaesthetic for juveniles of matrinxã *Brycon cephalus* (Gunther, 1869). **Ciência Rural**, v.33, n.5, p.943-947, 2003.
- INOUE, L. A. K. A. et al. Efeito do óleo de cravo na resposta de estresse do matrinxã (*Brycon cephalus*) submetido ao transporte. **Acta amazônica**, v. 35, p. 289-295, 2005.
- KING, W. V.; HOOPER, B.; HILLSGROVE, S.; BENTON, C.; BERLINSKY, D. L. The use of clove oil, metomidate, tricaine methanesulphonate and 2- phenoxyethanol for inducing anaesthesia and their effect on the cortisol stress response in black sea bass (*Centropristis striata* L.). **Aquaculture Research**, v. 36, p. 1442- 1449, 2005.
- KUBITZA. **Qualidade da água no cultivo de peixes e camarões**. São Paulo: CIP-USP, 2003.
- MASSONE, F. Anestesiologia Veterinária- **Farmacologia e técnicas**, 3. Ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999. 225 p.
- MEROLA, N.; SOUZA, H. Cage Culture of the Amazon Fish Tambaqui, *Colossoma macropomum*, at Two Stocking Densities. **Aquaculture**, Ottawa, v. 71, p.15-21, jun.1988.
- MOREIRA. A.G.L. *et al.* Eficácia do eugenol extraído da planta *Eugenia aromatica* como anestésico para realização de biometrias em adultos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, Maringá, v. 32, n. 4, p. 419-423, 2010.

OLSEN, Y. A.; EINARSDOTTIR, L.E.; NILSSEN, K.J. Metomidate anesthesia in Atlantic salmon, *Salmo salar*, prevents plasma cortisol increase during stress, **Aquaculture**, v. 134, p.155-168, 1995.

PARK, M.O. et al. Anaesthetic efficacy and physiological responses to clove oil anaesthetized kelp grouper *Epinephelus bruneus*. **Aquaculture Research**, v.39, p.877-884, 2008.

PARK, M. O.; IM, S. Y.; SEOL, D. W.; PARK, I. S. Efficacy and physiological responses of rock bream, *Oplegnatus fasciatus* to anesthetization with clove oil. **Aquaculture**, v. 287, n. 3-4, p. 427-430, 2009.

QUILLIAM, J. P.; STABLES, R. The effects of cunaniol a polyacetylenic alcohol isolated from the plant *Clibadium sylvestre*, on piscine behavior. **British Journal Pharmacology**, v. 34, p. 679-680, 1968.

RESENDE, E. K.; GRAEF, E. W.; ZANIBONI FILHO, E.; PAIXÃO, A. M.; STORI FILHO, A. Avaliação do crescimento e produção de Jaraquis (*Semaprochilodus* spp.), em açude de igarapé de terra firme nos arredores de Manaus, Amazonas. **Acta Amazônica**, Manaus, v.15, n.1/2, p.19-36, mar./jun. 1985.

ROSS, L. G. & ROSS, B. **Anaesthetic and sedative techniques for aquatic Animals**, 3rd ed. Blackwell, London, UK. 222 p., 2009.

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

ROUBACH, R.; GOMES, L.C.; LOURENÇO, J.N.P.; FONSECA, F.A.L; SANTOS, P.J.O.; VAL, A.L. Efficacy of eugenol as anaesthetic for tambaqui juvenile (*Colossoma macropomum*). In VAL, A.L, ALMEIDA-VAL, V.M.F.; MCKINLEY, D. (Eds) **Tropical fish: news and reviews**, Vancouver: International congress on biology of fishes, 2002. p. 93-96.

US FDA(Food and Drug Administration). **Guidance for Industry: concerns related to the use of clove oil as anesthetic for fish**. Rockville, 2007. (April 24), v.1. p. 355.

#### **4.CONCLUSÕES GERAIS**

O extrato aquoso de cunambi é considerado um anestésico natural, bastante utilizado pela população ribeirinha, podendo ser utilizado com segurança para minimizar as taxas de mortalidades durante o transporte e biometrias, pois oferece uma rápida recuperação.