

Anais



V Jornada de Iniciação Científica da Embrapa Amazônia Ocidental

*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Amazônia Ocidental
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

Anais da V Jornada de Iniciação Científica da Embrapa Amazônia Ocidental

*Francisco Célio Maia Chaves
Luadir Gasparotto
Lucinda Carneiro Garcia
Marcos Vinícius Bastos Garcia
Ricardo Lopes
Wenceslau Geraldes Teixeira
Editores Técnicos*

*Embrapa Amazônia Ocidental
Manaus, AM
2009*

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Amazônia Ocidental

Rodovia AM-010, km 29, Estrada Manaus/Itacoatiara

Caixa Postal 319, 69010-970, Manaus, AM

Fone: (92) 3303-7800

Fax: (92) 3303-7820

www.cpaa.embrapa.br

Comitê Local de Publicações

Presidente: *Celso Paulo de Azevedo*

Secretária: *Gleise Maria Teles de Oliveira*

Membros: *Aparecida das Graças Claret de Souza*

José Ricardo Pupo Gonçalves

Lucinda Carneiro Garcia

Luis Antonio Kioshi Inoue

Maria Augusta Abtibol Brito

Maria Perpétua Beleza Pereira

Paulo César Teixeira

Raimundo Nonato Vieira da Cunha

Ricardo Lopes

Ronaldo Ribeiro de Moraes

Revisão de texto: *Maria Perpétua Beleza Pereira*

Normalização bibliográfica: *Maria Augusta Abtibol Brito*

Diagramação e arte: *Gleise Maria Teles de Oliveira*

1ª edição

1ª gravação em CD-ROM (2009): 200

Todos os direitos reservados.

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

**CIP-Brasil. Catalogação-na-publicação.
Embrapa Amazônia Ocidental.**

Jornada de Iniciação Científica da Embrapa Amazônia Ocidental (5. : 2009 : Manaus).

Anais... / editores Wenceslau Gerales Teixeira, Lucinda Carneiro Garcia, Luadir

Gasparotto, Marcos Vinicius Bastos Garcia, Ricardo Lopes e Francisco Célio Maia

Chaves. – Manaus: Embrapa Amazônia Ocidental, 2009.

1 CD-ROM; 4³ pol.

ISBN 978-85-89111-07-2

1. Pesquisa. 2. Desenvolvimento. I. Teixeira, Wenceslau Gerales. II. Garcia, Lucinda Carneiro. III. Gasparotto, Luadir. IV. Garcia, Marcos Vinicius Bastos. V. Lopes, Ricardo. VI. Chaves, Francisco Célio Maia. VII. Título.

CDD 501

Seção VI – Piscicultura

Avaliação da Atividade Anti-helmíntica de Banhos Terapêuticos com Eugenol em Tambaqui (*Colossoma macropomum*) Infectados com Monogenoides¹

William Sandro da Cunha Miranda
Cheila de Lima Boijink
Edivânia Carvalho

Resumo

Este trabalho avaliou o uso de eugenol no controle de monogenoides, parasito de brânquias de tambaqui (*Colossoma macropomum*). Peixes naturalmente parasitados foram submetidos a banhos terapêuticos sob diferentes concentrações (0, 5, 10, 15 mg/L) em diferentes tempos de exposição (15, 30 e 60 minutos). Após os banhos terapêuticos, os animais foram colocados em água sem eugenol por 30 minutos, para que os parasitos mortos se desprendessem. Imediatamente, e uma semana após os banhos, 15 peixes de cada tratamento foram sacrificados para retirada das brânquias, que foram fixadas em formol (5%) para contagem de monogenoides. Logo após a exposição, a intensidade de parasitos teve redução significativa somente nos grupos tratados com 15 mg de eugenol/L. A concentração que apresentou melhor eficácia (81%) no número de parasitas foi 10 mg/L por 60 minutos de exposição. Durante a exposição ao eugenol, os animais se apresentaram anestesiados, retornando à condição normal logo após a colocação em água sem o produto. Assim, é possível concluir que o tambaqui é tolerante a banhos terapêuticos com eugenol, contudo o produto não apresentou eficácia satisfatória no controle de monogenoides nas concentrações testadas, mais estudos são necessários para indicação do eugenol como anti-helmíntico na aquicultura.

Termos para indexação: piscicultura, tratamento natural, parasita, peixes, brânquias.

Introdução

A intensificação nos sistemas de produção de organismos aquáticos tem revelado obstáculos que afetam diretamente a produtividade e o crescimento da atividade, estando a área de Sanidade como um dos principais entraves e que proporciona a base para o estudo e desenvolvimento de novas tecnologias. Altas densidades, manejo inadequado, deficiências nutricionais e variações nas características físico-químicas da água favorecem a quebra do equilíbrio no sistema hospedeiro/patógeno/ambiente. Sob condições ambientais adequadas e baixa resistência do organismo cultivado, ocorre a proliferação do patógeno, muitas vezes oportunista, culminando em mortalidades, perdas econômicas com consequências na produtividade (MARTINS et al., 2001).

No Amazonas, as espécies mais cultivadas e que apresentam maior interesse econômico para a piscicultura são o tambaqui (*Colossoma macropomum*), a matrinxã (*Brycon amazonicus*) e o pirarucu (*Arapaima gigas*). Entretanto, o tambaqui tem sido o carro-chefe, representando mais de 90% da produção de 7 mil toneladas/ano (BERNARDINO, 2006), por melhor se enquadrar nas características necessárias para aceitação no mercado amazonense e por apresentar maior disponibilidade de alevinos aos piscicultores. A produção nacional de tambaqui está na faixa das 20 mil t/ano, representando 12,2% dos peixes cultivados no País (CRESCÊNCIO, 2005). Atualmente uma das questões que mais preocupam os técnicos e produtores rurais no Amazonas é a ocorrência de doenças. Muitas enfermidades requerem práticas de manejo preventivas. Porém nem sempre se tomam esses cuidados, o que pode representar sério risco econômico aos produtores rurais, pois os prejuízos causados pelas doenças em peixes podem atingir níveis irreversíveis.

Dentre as doenças parasitárias, as mais comumente relatadas para o tambaqui são causadas por monogenoides, acantocéfalos, *myxobolus* sp., copépodos, braquiúros e fungos (MALTA et al., 2001). Criações de tambaqui em tanques-rede têm mostrado maior intensidade parasitária dos monogenoides, sendo eles o grupo que causa maior severidade em termos de doenças em peixes (VARELLA et al., 2003).

Os monogenoides caracterizam-se, principalmente, pela presença de um aparelho de fixação localizado geralmente na parte posterior do corpo, o haptor. Essa estrutura é formada por uma série de ganchos, barras e âncoras, que são introduzidos principalmente nas brânquias dos peixes para fixação. Provoca uma série de reações, podendo culminar em hipersecreção de muco, o que poderia levar os animais à morte por asfixia ou, ainda, provocar lesões que facilitam a penetração de agentes secundários – fungos e bactérias (THATCHER e NETO, 1994).

Tratamentos por meio de banhos com vários químicos terapêuticos e inseticidas têm sido conduzidos com diversas espécies de peixe, utilizando-se paration metílico, mebendazol, formalina, permanganato de potássio, cloreto de sódio, ácido acético e peróxido de hidrogênio (KABATA, 1985; THATCHER, 1991; PAVANELLI et al., 2002; ARAÚJO, 2005). Alguns dos produtos usualmente aplicados são tóxicos aos peixes e ao meio ambiente.

Atualmente pesquisadores têm sugerido produtos orgânicos como alternativa de tratamento na agropecuária. A "sabedoria popular", muitas vezes, tem indicado que determinadas plantas podem ser utilizadas na fitoterapia. Muitas pesquisas têm atestado a ação dessas plantas, mas ao mesmo tempo demonstram reações tóxicas no organismo hospedeiro. A relação entre ação da planta, dosificação com ação significativa e efeito tóxico deve ser muito bem investigada, para que os

conhecimentos adquiridos possam ser passados de maneira clara no momento da utilização prática do fitoterápico (CHAGAS, 2004).

O eugenol é derivado de algumas plantas, como: *Eugenia caryophyllata* (ISAACS, 1983), *Ocimum gratissimum* (PESSOA et al., 2002), entre outras, inclusive da região amazônica. Utilizado como anestésico, é rapidamente metabolizado e excretado (WAGNER et al., 2002), também é utilizado como antimicótico e anti-helmíntico, e apresenta propriedades antibactericidas (KARAPMAR e AKTUG, 1987; PESSOA et al., 2002; HUSSAIN et al., 2000), sendo que, para peixes, até o momento só foi testado como anestésico.

Os produtos alternativos no controle de parasitas podem ser amplamente utilizados e proporcionarão a diminuição de resíduos nos produtos animais comercializados e no ambiente, que são motivo de preocupação para sociedade. Essa alternativa pode contribuir com informações para o desenvolvimento da piscicultura sustentável.

Portanto, para que a atividade aquícola possa ser competitiva e sustentável, é necessário que os problemas relacionados à ocorrência de doenças parasitárias sejam resolvidos, principalmente para peixes de alto valor econômico, como o tambaqui (*Colossoma macropomum*), que é a espécie mais cultivada na região Norte do Brasil (IBAMA, 2006). Sendo assim, o objetivo do presente projeto foi testar e avaliar a atividade anti-helmíntica de banhos terapêuticos com eugenol no controle de monogenoídeos em tambaqui (*Colossoma macropomum*).

Material e Métodos

Juvenis de tambaqui (peso médio $17,5 \pm 4,4$) adquiridos na Estação de Balbina, localizada no Município de Presidente Figueiredo, AM, foram trazidos

para o Setor de Piscicultura da Embrapa Amazônia Ocidental para adaptação até o início do experimento, aproximadamente 45 dias. Os animais foram alimentados até saciedade aparente, com ração comercial extrusada com 34% de PB. Antes do experimento, a alimentação foi suspensa por 24 horas. Foram retiradas as brânquias de 15 peixes para verificar a presença de monogenoídeos antes do início do experimento.

Para os banhos terapêuticos, os animais foram colocados em caixas de 1.000 L com aeração constante, 50 animais por tratamento, com 3 repetições. Quando completados 15 minutos de exposição, uma amostra de 15 animais por tratamento, ou seja, 5 animais de cada repetição, foram colocados em água sem eugenol por 30 minutos, para que os parasitos mortos se desprendessem das brânquias. Em seguida, foram sacrificados para retirada das brânquias, que foram fixadas em formol (5%) para contagem de monogenoídeos. O mesmo procedimento foi seguido para banhos de 30 e 60 minutos de exposição.

Os parâmetros físico-químicos das unidades experimentais foram avaliados antes da preparação dos tratamentos e em 15, 30 e 60 minutos de exposição ao eugenol e ao final de uma semana. Os valores de pH foram obtidos com auxílio de um pHmetro da marca YSI Environmental (Modelo 100), as medidas de temperatura e oxigênio dissolvido foram realizadas com eletrodo de um monitor YSI 550-A. As concentrações de alcalinidade e dureza foram determinadas pelo método de titulação das amostras, e a amônia total, pelo método de endofenol. Ao longo do experimento, os peixes foram observados para detecção de eventuais alterações de comportamento ou surgimento de lesões externas.

Logo após os banhos terapêuticos e uma semana após, 15 animais foram capturados e sacrificados por perfuração

da fontanela craniana, as brânquias foram removidas, em seguida fixadas em formol (5%) para posterior contagem de monogenoides em cada arco branquial com auxílio de microscópio estereoscópico.

De posse dos resultados, foram estabelecidos o índice de intensidade média de parasitos (n° total de parasitos / n° de peixes) e a prevalência (n° de hospedeiros infectados / n° total de peixes x 100), segundo recomendações de Bush et al. (1997). O percentual de eficácia foi determinado pelo número de parasitos do grupo inicial menos o número de parasitos após o tratamento, dividido pelo número de parasitos do grupo inicial x 100 (MARTINS et al., 2001).

Tabela 1. Média dos parâmetros de qualidade da água antes e após banhos terapêuticos com eugenol para tambaqui.

	Temp. (°C)	pH	Oxigênio (mg/L)	Dureza (mg CaCO ₃ /L)	Alcalinidade (mg CaCO ₃ /L)	Amônia (mg/L)
Inicial	25,0	6,1	6,5	5,0	3,3	0,0
Final	25,1	7,1	7,3	6,4	7,4	0,5

Os resultados demonstram que não houve alterações durante o período experimental, permanecendo dentro dos padrões adequados (SIPAÚBA-TAVARES, 1995), comprovando a não interferência nos resultados observados.

Quanto ao comportamento dos tambaquis durante a exposição ao eugenol, os animais foram anestesiados normalmente. Sendo que uma vez transferidos para as caixas contendo água limpa, todos os peixes voltaram ao comportamento normal. O uso de eugenol como anestésico na aquicultura é bastante difundido, pois é rapidamente metabolizado e excretado (INOUE et al., 2005; ROUBACH et al., 2005; DERIGGI et al., 2006).

A prevalência de monogenoides nos juvenis de tambaqui, antes e durante o período experimental, foi de 100%, pois

Os resultados foram submetidos à Anova, e as médias foram comparadas pelo teste de Dunnett, comparando o grupo controle com os tratados e teste t para comparar o número de parasitos logo após o tratamento e 7 dias após. O programa estatístico para processamento dos dados foi o Statistica 6.0.

Resultados e Discussão

Os parâmetros de qualidade da água, antes e no final no período experimental onde foram estocados os juvenis após os banhos terapêuticos, permaneceram adequados ao equilíbrio orgânico dos peixes (Tabela 1).

os peixes estavam naturalmente parasitados. A intensidade antes do transporte foi de 43,7 – 5,79 parasitos por peixe.

O banho terapêutico com eugenol (Figura 1) que apresentou maior eficácia no controle de monogenoides foi a concentração de 10 mg/L por 60 minutos de exposição. Essa concentração resultou em redução significativa de aproximadamente 81% no número de parasitos em relação ao grupo controle, sem eugenol. As demais concentrações testadas também apresentaram diferença em relação ao grupo controle, após uma semana de exposição. Logo após a exposição, a intensidade de parasitos teve redução significativa somente nos grupos tratados com 15 mg de eugenol /L. Durante a exposição ao eugenol, os animais se apresentaram anestesiados, retornando à condição normal logo após a colocação em água sem o produto.

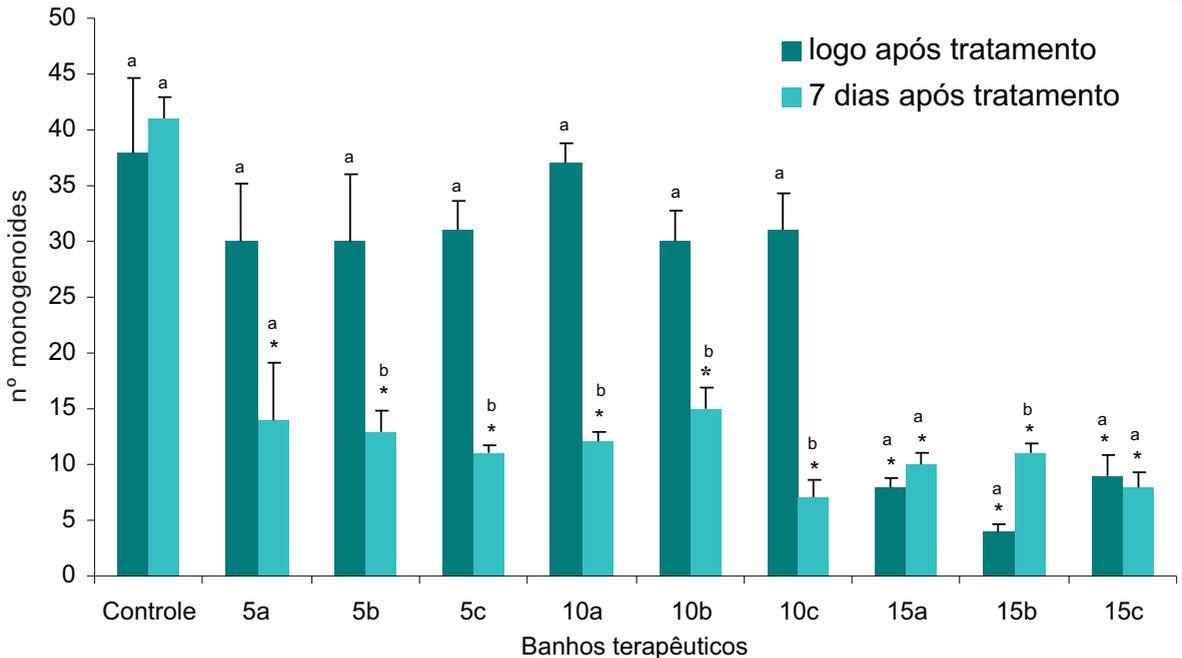


Figura 1. Intensidade de monogenoides de juvenis de tambaqui submetidos a diferentes concentrações de eugenol, logo após os banhos terapêuticos e uma semana após. Controle = 0 mg/L; 5a = 5 mg/L(15 min); 5b = 5 mg/L(30 min); 5c = 5 mg/L(60 min); 10a = 10 mg/L(15 min); 10b = 10 mg/L(30 min); 10c = 10 mg/L (60 min); 15a = 15 mg/L(15 min); 15b = 15 mg/L(30 min); 15c = 15 mg/L (60 min).

No entanto, uma semana após o tratamento, os animais tratados com 15 mg de eugenol/L em banhos de 15 e 60 minutos de exposição, o número de parasitas não apresentou diferença em relação a logo após o tratamento. O grupo 15 mg/L, exposto por 15 minutos, apresentou aumento na intensidade 7 dias após o tratamento.

Após uma semana, a intensidade de monogenoides diminuiu para 53%, 57%, 64%, 68%, 50%, 77% e 11% em relação a contagem logo após os banhos nas respectivas concentrações 5 mg/L (15 min), 5 mg/L (30 min), 5 mg/L (60 min), 10 mg/L (15 min), 10 mg/L (30 min), 10 mg/L (60 min) e 15 mg/L (60 min). Nas concentrações 15 mg/L (15 min) e 15 mg/L (30 min) houve aumento de 25% e 175%, respectivamente, em relação a contagem logo após os banhos. Quando comparado ao grupo controle (0 mg/L), após uma semana dos banhos, os animais expostos às concentrações 5 mg/L, 10 mg/L e 15 mg/L de eugenol

nos diferentes tempos apresentaram um diminuição de 63%, 66%, 71%, 68%, 61%, 81%, 74%, 71% e 79%, respectivamente, no número de parasitas.

Devido à falta de trabalhos testando o efeito anti-helmíntico do eugenol e outros produtos naturais, não é possível comparar esses dados. No entanto, outros anti-helmínticos, tais como albendazol e praziquantel, demonstraram aumento considerável no número de parasitas após o tratamento (ONAKA et al., 2003). Aumento este atribuído ao estresse, ou seja, alterações fisiológicas causadas pelo tratamento. Quaisquer que seja a origem do estresse ocorrem alterações do equilíbrio orgânico que colocam a saúde em risco (WEDEMEYER, 1997), pois a elevação dos níveis plasmáticos de cortisol deprime os mecanismos de defesa de peixes (PICKERING e POTTINGER, 1985; MAULE et al., 1989), resultando em aumento de suscetibilidade às doenças (BARTON e IWAMA, 1991).

Martins et al. (2001) também observaram que banhos com mebendazol apresentam eficácia significativa no pacu (*Piaractus mesopotamicus*), mas foram observadas alterações no número de linfócitos e trombócitos após o tratamento.

Os resultados deste trabalho demonstram que, embora tenha sido bem tolerado pelos peixes, o eugenol teve baixa eficácia, não ultrapassou 81%. Pois, segundo a Portaria nº 48 de 12/5/1997 da Secretaria da Defesa Agropecuária do Ministério da Agricultura, para o registro como antiparasitários, sua eficácia não pode ser inferior a 90%. Entretanto, não há, até o momento, legislação para o uso de tais produtos em peixes ou outros organismos aquáticos. Caso essa Portaria venha a vigorar para peixes, a utilização de eugenol deve ser melhor pesquisada.

O eugenol, que apresenta atividade terapêutica contra vários patógenos (NAKAMURA et al., 2004), é um óleo encontrado em algumas plantas de regiões tropicais. A maioria das espécies apresentou bons percentuais de atividade nos testes com inibição de eclosão de ovos de nematoides e no combate a helmintos adultos *in vitro* (CAMURÇA-VASCONCELOS et al., 2005).

O Brasil tem enorme potencial na área de plantas medicinais, as plantas da região amazônica são ricas em propriedades terapêuticas. Sendo assim, é o momento de estudar, valorizar e validar a nossa rica e vasta flora (ROEDER, 1988). Dessa forma, o uso de produtos extraídos de plantas amazônicas desperta nova visão na prevenção e tratamento de enfermidades em peixes, pois oferecem alternativa do aproveitamento dos produtos da floresta de maneira econômica e, se bem explorada, sustentável. Sendo assim, outras investigações serão realizadas para viabilizar a utilização do eugenol como anti-helmíntico na aquicultura.

Conclusões

Os dados indicam que o tambaqui é tolerante a banhos terapêuticos com eugenol, contudo o produto não apresentou eficácia satisfatória no controle de monogenóides nas concentrações testadas, mais estudos são necessários para recomendação do eugenol como anti-helmíntico na aquicultura.

Agradecimento

À Fapeam, pelo auxílio financeiro, e à Embrapa Amazônia Ocidental, pela estrutura e pelo apoio técnico.

Referências

- ARAÚJO, L. D. **Eficácia da administração oral do mebendazol no controle de monogenóides parasitas de brânquias do tambaqui (*Colossoma macropomum*)**. 2005. 27 f. Monografia - Embrapa/Esbam, Manaus.
- BARTON, B. A.; IWAMA, G. K. Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of corticosteroids. **Ann. Rev. Fish Dis.**, 1: 3-26, 1991.
- BERNARDINO, G. Piscicultura atinge 7,1 mil ton ano. **Jornal do Comércio**, Manaus, 14 dez. 2006.
- BUSH, A. O.; K. D. LAFFERTY; J. M. LOTZ; A.W. SHOSTAK. Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis *et al.* revisited. **Journal of Parasitology**, Lancaster, v.83, p. 575-583, 1997.
- CAMURÇA-VASCONCELOS, A. L. F., MORAIS, S. M., SANTOS, L. F. L., ROCHA, M. F. G., BEVILAQUA, C. M. L. Validação de plantas medicinais com atividade anti-helmíntica. **Rev. Bras. de Plantas Medicinai**s, v.7, n.3, p.97-106, 2005.

- CHAGAS, A. C. S. Controle de parasitas utilizando extratos vegetais. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 13, supl. 1, p. 156-160, 2004.
- CRESCÊNCIO, R. Ictiofauna brasileira e seu potencial para criação. In: Baldisserotto, B.; Gomes, L. de C. (Org.). **Espécies nativas para piscicultura no Brasil**. Santa Maria: UFSM, 2005. p. 23-33.
- DERIGGI, G.; INOUE, L.A.K.A.; MORAES, G. Stress responses to handling in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* Linnaeus): assessment of eugenol as an alternative anesthetic. **Acta Scientiarum** (UEM), v. 28, p. 269-274, 2006.
- HUSSAIN, M. M. A. et al. Antimycotic activity of eugenol against selected water molds. **Journal of Aquatic Animal Health**, v. 12, p. 224-229, 2000.
- IBAMA. Ibama divulga estatísticas de 2004. **Panorama da Aquicultura**, v. 92, 2006.
- INOUE, L.A.K.A.; AFONSO, L.O.; IWAMA, G.; MORAES, G. Effects of clove oil on the stress response of matrinxã (*Brycon cephalus*) to transport. **Acta Amazonica**, Manaus, v. 35, n. 2, p. 289-295, 2005.
- ISAACS, G. Permanent local anaesthesia and anhidrosis after clove oil spillage. **Lancet**, p. 882-883, 1983.
- KABATA, Z. **Parasites and diseases of fish cultured in the tropics**. Philadelphia: Taylor & Francis, 1985. 318 p.
- KARAPMAR, M.; AKTUG, S. E. Inhibition of foodborne pathogens by thymol, eugenol, menthol and anethole. **International Journal of Food Microbiology**, v. 4, p. 161-166, 1987.
- MALTA, J.C.O.; GOMES, A.L.S.; ANDRADE, S.M.S.; VARELLA, A.M.B. Infestações maciças por acantocéfalos, *Neoechinorhynchus buttenerae*, (*Eoacanthocephala*: *Neoechinorhynchidae*) em tambaquis jovens, *C. macropomum* cultivados na Amazônia Central. **Acta Amazonica**, v.31, n.1, p.133-143, 2001.
- MARTINS, M. L. et al. Mebendazole treatment against *Anacanthorus penilabiatu*s (Monogenea, Dactylogyridae) gill parasite of cultivated *Piaractus mesopotamicus* in Brazil. Efficacy and hematology. **Acta Parasitologica**, v. 46, p. 332-336, 2001.
- MAULE, A.G.; TRIPP, R.A.; KAATTARI, S.L.; SCHRECK, C.B. Stress alters immune function and disease resistance in Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). **J. of Endoc**, 120: 135-142, 1989.
- NAKAMURA, C. V.; ISHIDA, K.; FACCIN, L. C.; DIAS FILHO, B. P; CORTEZ, D. A. G.; ROZENTAL, S.; SOUZA, W.; UEDANAKAMURA, T. In viro activity of essential oil from *Ocimum gratissimum* L. against four *Candida* species. **Research in Microbiology**, Paris, v. 155, p.579-586, 2004.
- ONAKA, E.M.; MARTINS, M.L.; MORAES, F.R. Eficácia do albendazol e praziquantel no controle de *Anacanthorus penilabiatu*s, parasito de pacu *Piaractus mesopotamicus* (Osteichthyes: Characidae). I. Banhos terapêuticos **B. Inst. Pesca**, São Paulo, 29(2): 101 - 107, 2003.
- PAVANELLI, Gilberto Cezar; EIRAS, Jorge da Costa e TAKEMOTO, Massato Ricardo. **Doenças de peixes** . 2a ed. p. 104-105. Maringá: Eduem, 2002.
- PESSOAL, M. et al. Anthelmintic activity of essential oil of *Ocimum gratissimum* Linn. and eugenol against *Haemonchus contortus*. **Veterinary Parasitology**, v. 109, p. 59-63, 2002.

PICKERING A.D.; POTTINGER T.G. Cortisol can increase the susceptibility of brown trout, *Salmo trutta* L. to disease without reducing the white blood cell count. **J. Fish Biol.** 27: 611-619, 1985.

ROEDER, R. **Promoção da agricultura em regiões semi-áridas do Nordeste (Piauí) brasileiro: Pesquisa sobre a pecuária no planaltos da chapada.** Teresina. DNOCS – 1a DR, Eschborn: GTZ, 1988. 125p.

ROUBACH, R.; GOMES, L.C.; FONSECA, F. A. L.; VAL, A.L. Eugenol as an efficacious anaesthetic for tambaqui, *Colossoma macropomum* (Cuvier). *Aquaculture Research*, Oxford, UK, v. 36, n. 11, p. 1056-1061, 2005.

SIPAÚBA-TAVARES, L.H. **Limnologia Aplicada à Aqüicultura.** Jaboticabal: FUNEP, 70 p. 1995.

THATCHER, V. E. Amazon fish parasites. **Amazoniana**, v. 11, n. 3-4, p. 1-568, 1991.

THATCHER, V. E.; NETO, J. B. Diagnóstico, prevenção e tratamento das enfermidades de peixes neotropicais de água doce. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 16, n. 3, p. 111-128, 1994.

VARELLA, A.M.B. et al. Monitoramento da parasitofauna de *Colossoma macropomum* (Osteichthyes: Characidae) cultivado em tanques-rede em um lago de várzea da Amazônia, Brasil. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE AQUICULTURA, 12., 2003, Goiânia. **Anais.** Jaboticabal: Aquabio, 2003. v.1, p.95-106. Editado por E.C. Urbinati, J.E.P. Cyrino.

WAGNER, E.; ARNDT, R.; HILTON B. Physiological stress responses, egg survival and sperm motility of rainbow trout broodstock anesthetized with clove oil, tricaine methanesulfonate or carbon dioxide. **Aquaculture**, v. 211, p. 353-366, 2002.

WEDEMEYER, G. A. Physiology of fish in intensive culture systems. Chapman & Hall. 2: 10-59, 1997.