

Anais



VI Jornada de Iniciação Científica da Embrapa Amazônia Ocidental

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

Anais da VI Jornada de Iniciação Científica da Embrapa Amazônia Ocidental

*Regina Caetano Quisen
Ronaldo Ribeiro de Moraes
Luis Antonio Kioshi Aoki Inoue
Gilvan Ferreira da Silva
Editores Técnicos*

*Embrapa Amazônia Ocidental
Manaus, AM
2010*

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 (2010): 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 (6. : 2010 :
Manaus).

Anais... / editores Regina Caetano Quisen, Ronaldo Ribeiro de Moraes, Luis
Antonio Kioshi Aoki Inoue e Gilvan Ferreira da Silva. – Manaus: Embrapa
Amazônia Ocidental, 2010.

1 CD-ROM; 4 ¾ pol.

ISBN 978-85-89111-10-2

1. Pesquisa. 2. Desenvolvimento. I. Quisen, Regina Caetano. II. Moraes,
Ronaldo Ribeiro de. III. Inoue, Luis Antonio Kioshi Aoki. IV. Silva, Gilvan Ferreira
da. V. Título.

CDD 501

Respostas Metabólicas do Tambaqui (*Colossoma macropomum*) a Banhos Anestésicos com Benzocaína¹

Shirley de Sousa Ribeiro
Cheila de Lima Boijink
Luís Antônio Kioshi Aoki Inoue

Resumo

O presente trabalho teve como objetivo avaliar as respostas metabólicas do tambaqui (*Colossoma macropomum*) a banhos anestésicos com benzocaína. Os peixes foram estocados em 12 gaiolas flutuantes e 4 tratamentos foram testados, sendo 2 concentrações de benzocaína, assim divididos: T1 – Controle; T2 – 0 ppm; T3 – 15 ppm; T4 – 60 ppm, com três repetições cada. Após os banhos foram determinados os valores médios do hematócrito, hemoglobina, glicose, do volume corporcular médio (VCM), da concentração da hemoglobina corporcular média (CHCM); e média das células vermelhas do sangue (RBC), para avaliação de possível estresse produzido pelo anestésico. Os resultados demonstraram que a glicose plasmática apresentou elevações significativas nos tratamentos T1, T2 e T3 de forma crescente em respostas aos estímulos aplicados no estudo. Percebe-se que a benzocaína não diminuiu o estresse do tambaqui, sendo, inclusive, verificado estresse adicional pelo seu uso no tempo de exposição empregado neste trabalho.

Termos para indexação: peixe, anestésico, piscicultura, estresse, respostas metabólicas.

¹Plano de Trabalho.

Introdução

A piscicultura é uma atividade que vem crescendo com grande potencial nos últimos anos, e, dentre o cultivo de várias espécies nativas, o tambaqui (*C. macropomum*), peixe da Bacia Amazônica, é a espécie com excelente potencial para cultivo, por apresentar bom crescimento, hábito gregário, resistência a baixos níveis de oxigênio dissolvido e excelente utilização de alimentos (SAINT-PAUL, 1986). Entretanto, contrário as suas excelentes características, seu manejo tem se apresentado complicado devido a sua agitação. Tal manuseio gera alto nível de estresse, resultando em consequências indesejáveis, como ferimentos na superfície do corpo, perda de escamas, propiciando a manifestação de patógenos, doenças infecciosas e/ou posterior morte (INOUE et al., 2004).

Como meio para facilitar o manejo e amenizar danos causados aos peixes, é comum a utilização de anestésicos, como a tricaína metano sulfonato (MS 222), a quinaldina e o 2-fenoxietanol. Porém, esses anestésicos são de difícil obtenção e têm custo elevado (ROUBACH & GOMES, 2001).

Assim, a benzocaína (etil 4-amino benzoato), por atender aos critérios anteriores, sendo de fácil manipulação e sem aparentes riscos de intoxicação, vem sendo bastante utilizada para a imobilização de peixes, para tornar as práticas de manejo do dia a dia da piscicultura melhor e com mais segurança.

O presente trabalho analisou as respostas metabólicas do tambaqui (*C. macropomum*) a banhos anestésicos com benzocaína, através das análises de glicose, hemoglobina, média das células vermelhas do sangue (RBC), do volume

corpuscular médio (VCM), da concentração da hemoglobina corpuscular média (CHCM) e hematócrito.

Material e Métodos

Juvenis de tambaqui da mesma idade foram obtidos na estação de piscicultura da usina hidrelétrica de Balbina, Município de Presidente Figueiredo, AM, e trazidos às instalações da Embrapa Amazônia Ocidental, localizada em Manaus, AM. Os peixes foram estocados em viveiro escavado e alimentados durante 4 meses até atingir aproximadamente 100 g. Depois os peixes foram levados para gaiolas flutuantes, montadas em açude de operação de pesque-pague na Rodovia AM-10, Km 35. Doze gaiolas flutuantes de 1 m³ foram distribuídos ao acaso para estocagem de 10 peixes/gaiola, que foram utilizados no experimento, para quatro tratamentos com três repetições cada: Controle, T1, T2 e T3. Controle – os peixes foram somente amostrados nessas unidades. T1 – os tambaquis foram transferidos, utilizando-se puçá, para três caixas de isopor com capacidade para 20 litros de água cada, não contendo anestésico, ali permanecendo por 15 minutos e depois retornados aos tanques de origem. T2 e T3 tiveram manuseio similar ao aplicado ao T1, porém utilizou-se benzocaína nas caixas de isopor em concentrações de 15 mg/L e 60 mg/L, respectivamente. Três peixes de cada gaiola com 10 peixes foram amostrados logo após a imposição dos estímulos referentes aos tratamentos (0h) e depois de um período de recuperação de 24h. Amostras de sangue dos animais foram coletadas para análise de hematócrito, hemoglobina, RBC e separação do plasma para dosagem de glicose. Os peixes eram alimentados pela manhã, e a qualidade água do açude monitorada duas vezes por semana. Os

peixes ficaram em um período de aclimatação para garantir condição basal dos animais, até o início do experimento de exposição do tambaqui ao anestésico benzocaína.

Para as análises hematológicas, o sangue foi coletado por punção caudal com seringas previamente heparinizadas e, então, centrifugado a 12.000 rpm durante três minutos, para a obtenção do plasma. A análise plasmática constou das concentrações de glicose. No sangue total foram determinados os valores médios de hematócrito, hemoglobina, média das células vermelhas do sangue (RBC), o volume corpuscular médio (VCM), da concentração da hemoglobina corpuscular média (CHCM).

A análise de glicose foi obtida pelo método Glicose Oxidase (TRINDER, 1969), que tem por princípio catalisar a oxidação da glicose. A glicose reage com o oxigênio e com a água, liberando ácido glucônico e peróxido de hidrogênio. O peróxido reage com 4-aminoantipirina e fenol sob a ação catalisadora da peroxidase, através de uma reação oxidativa de acoplamento que forma uma antipirilquionimia vermelha, cuja intensidade de cor é proporcional à concentração de glicose na amostra. A leitura do material foi feita na "Microplate Reader" (Molecular Devices) com filtro de 525nm.

Para o hematócrito, em capilar de vidro preenchido com sangue e sedimentados de micro-hematócrito a 21.000 x g por 3 min. Os valores foram calculados a partir de um cartão de leitura padronizado, e os valores foram expressos em %.

A hemoglobina foi determinada misturando-se 10 mL de sangue em 2mL de solução de Drabkin (KCN, KH₂PO₄, K₃[Fe(CN)₆] em água destilada). Leitura

óptica em eletrofotômetro em 540 nm. Para o cálculo de hemoglobina total foi utilizada a fórmula: HB total g% = O.D.540 x 1,6114 / 11 x FD, onde FD = fator de diluição.

Para determinação do RBC foi pego uma alíquota de 10 µL de sangue misturada a 2 mL de solução de citrato formol, agitada e colocado 10 µL desta mistura em Câmara de Neubauer (LIMA et al., 1969). Para o Volume Globular Médio utilizou-se a fórmula (VCM) = Htc. 10/Eri e para a Concentração de Hemoglobina Globular Média (CHCM) = Hb . 100 / Hct.

As variáveis hematológicas foram submetidas à análise de variância unifatorial para cada tempo independentemente, e àquelas que apresentaram diferenças significantes ($p < 0,05$) foram submetidas ao teste de contraste de médias de HSD para amostras desiguais.

Resultados e Discussão

Os parâmetros de qualidade da água (Tabela 1) não apresentaram diferença significativa durante todo o período experimental, os valores se apresentaram dentro do tolerado pela espécie.

De todas as variáveis sanguíneas analisadas no experimento referentes ao tempo 0h e depois de um período de recuperação de 24h, somente a glicose plasmática apresentou elevações significativas em respostas aos estímulos aplicados no estudo, cuja finalidade era simular a prática de manejo de banhos anestésicos com benzocaína. A glicose plasmática aumentou nos tratamentos T1, T2 e T3 de forma crescente (Tabela2).

Tabela 1. Qualidade da água das gaiolas onde foram mantidos os animais experimentados.

Dia	T° C	O.D. (mg/L)	pH
27/1/2009	29.5	6.09	5.98
29/1/2009	28.9	6.81	6.22
2/2/2009	30.1	5.88	6.20
5/2/2009	29.7	6.74	6.38

Tabela 2. Parâmetros hematológicos de tambaqui (*C. macropomum*) submetidos as diferentes concentrações de benzocaína, no tempo 0 e 24 horas após a exposição.

Tratamento	Glicose 0	Glicose 24	Hb 0	Hb 24	RBC 0	RBC 24
Controle	72,57 ± 12,90 ^a	12,00 ± 16,97 ^a	8,73 ± 0,70 ^a	7,80 ± 0,53 ^a	2,88 ± 0,21 ^a	1,81 ± 0,68 ^a
T1-0 ppm	113,36 ± 27,30 ^{ab}	124,56 ± 25,97 ^{ab}	7,92 ± 2,23 ^a	8,34 ± 0,63 ^a	2,61 ± 0,45 ^a	1,89 ± 0,11 ^a
T2-15 ppm	125,36 ± 41,92 ^b	112,90 ± 14,58 ^b	7,64 ± 0,67 ^a	8,57 ± 0,49 ^a	2,70 ± 0,16 ^a	1,91 ± 0,12 ^a
T3-60 ppm	168,68 ± 19,36 ^c	130,07 ± 23,72 ^c	7,71 ± 0,81 ^a	8,69 ± 0,74 ^a	2,85 ± 0,23 ^a	1,93 ± 0,05 ^a

Tratamento	VCM 0	VCM 24	CHCM 0	CHCM 24	Hemat. 0	Hemat. 24
Controle	105,91 ± 6,01 ^a	184,43 ± 11,52 ^a	28,84 ± 3,28 ^a	23,46 ± 2,46 ^a	30,50 ± 3,18 ^{ab}	33,38 ± 2,36 ^{ab}
T1-0 ppm	105,55 ± 16,88 ^a	151,39 ± 68,23 ^a	30,46 ± 13,95 ^a	24,97 ± 2,44 ^a	27,39 ± 5,37 ^a	33,43 ± 1,72 ^a
T2-15 ppm	114,09 ± 6,77 ^a	176,33 ± 14,24 ^a	24,94 ± 3,26 ^a	25,70 ± 3,31 ^a	30,83 ± 2,62 ^{ab}	33,71 ± 3,59 ^{ab}
T3-60 ppm	117,75 ± 5,80 ^a	143,34 ± 64,42 ^a	23,06 ± 2,29 ^a	26,51 ± 2,98 ^a	33,61 ± 3,59 ^b	32,42 ± 2,33 ^b

Letras diferentes na vertical indicam diferenças significantes pelo teste de HSD para amostras desiguais.

Observa-se que a benzocaína não diminuiu o estresse do tambaqui nas concentrações testadas, sendo inclusive verificado estresse adicional pelo seu uso no tempo de exposição do peixe neste trabalho. Pode-se observar com mais detalhes na Figura 1 que a glicose aumentou logo após o banho com benzocaína.

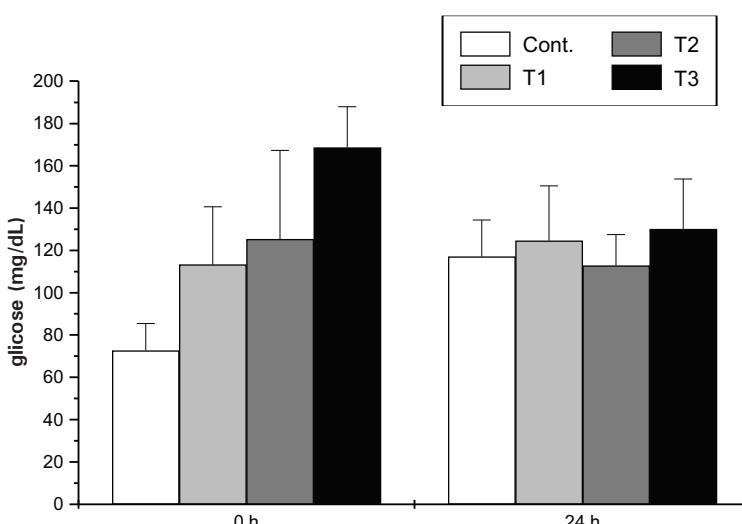


Figura 1. Glicose plasmática do tambaqui submetido a banhos anestésicos com benzocaína. Cont – peixes somente amostrados nas gaiolas de aclimatação. T1 – peixes foram transferidos para caixas com 20 L de água por 15 minutos. T2 e T3 – sofreram os mesmos estímulos, porém com benzocaínas nas caixas em concentrações de 15 mg / L e 60 mg / L , respectivamente.

Conclusões

Nas condições em que foi realizado o experimento nas concentrações de 0 mg/L, 15 mg/L e 60 mg/L de benzocaína, o estresse do tambaqui não diminuiu, verificando-se inclusive estresse adicional pelo tempo de exposição empregado neste trabalho.

Agradecimentos

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

Referências

INOUE, L. A. K. A.; HACKBARTH, A.; MORAES, G. Avaliação dos anestésicos 2-phenoxyethanol e benzocaína no manejo do matrinxã (*Brycon cephalus*) (Günter, 1869). **Biodiversidade Pampeana**, v. 2, n.2, 2004, p.10-15.

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, 2003, p.943-947.

LIMA, A. O.; SOARES, J. B.; GRECO, J. B.; GALIZZI, J.; CANÇADO, J. **Métodos de laboratório em clínica médica**. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 4^a Edição. 1969. 653 pp.

ROUBACH, R.; GOMES, L. Uso de anestésicos durante o manejo de peixes. **Panor Aquicult.**, v. II, n. 66, p. 37-40, 2001.

SAINT-PAUL, U. Potential for aquaculture of South American Freshwater Fishes: a review. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 54, p. 205-240, 1986.

TRINDER, P. Determination of glucose in blood using glucose oxidase with the alternative oxygen acceptor. **Ann. Clin. Biochem.**, v.6, p. 24-25, 1969.