

Benzocaína sobre respostas ao estresse do matrinxã submetido ao transporte em sacos plásticos

Benzocaine on the stress response of matrinxã subjected to transport in plastic bags

INOUE, Luís Antônio Kioshi Aoki^{1*}; HACKBARTH, Araceli², MORAES, Gilberto³

¹Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Brasil.

²Universidade Federal de São Carlos, São Paulo, Brasil.

³Universidade Federal de São Carlos, Departamento de Genética e Evolução, São Paulo, Brasil.

*Endereço para correspondência: luis.inoue@cpaa.embrapa.br

RESUMO

O transporte é uma prática de manejo necessária em todas as estações de piscicultura. Entretanto, tal evento é um estímulo adverso e agudo, que interrompe o equilíbrio dos animais com o ambiente, de forma a promover o estresse. Alguns peixes de importância comercial, como o matrinxã (*Brycon amazonicus*), apresentam movimentação excessiva durante o manejo em geral, o que pode ocasionar consequências indesejáveis como perda de muco, de escamas, ferimentos e mortalidade. No presente trabalho, foi testado o anestésico benzocaína adicionado à água de transporte, como forma de reduzir estresse. Foram testadas duas concentrações de benzocaína, 10 e 15mg/L. Os resultados não mostraram efeitos de diminuição de estresse, apesar de a utilização da benzocaína ter reduzido a movimentação dos animais durante o transporte. As concentrações testadas podem ter aumentado o estresse por sofrimento respiratório, entretanto, o equilíbrio hidroeletrólítico não foi alterado, com sugestão de ação do anestésico sobre a liberação de catecolaminas.

Palavras-chave: anestésico, *Brycon amazonicus*, manejo, metabolismo

SUMMARY

Transport is a necessary procedure in fish farming. However, it is an adverse and acute stimulus that breaks the balance between fish and environment, starting the stress condition. Some economic relevant species, as "matrinxã" (*Brycon amazonicus*), present excessive movements in

handling, which may result in the unwanted consequences as loss of mucus, scales, injuries and death. In this work, the addition of the anesthetic benzocaine to the transport water was evaluated in juvenile "matrinxã", in order to still the fish and possibly reducing stress. Two concentrations of benzocaine (10 and 15mg/L) were tested. The results did not show any diminution of indices related to stress, notwithstanding the use of benzocaine during transport. Concentrations tested increased the stress responses by respiratory affliction, however, hydro-electrolytic balance was unaltered, being suggested some effect of the anesthetic on the catecholamine releasing.

Keywords: anesthetic, *Brycon amazonicus*, hauling, metabolism

INTRODUÇÃO

Práticas de manejo, tais como o transporte, são rotineiras nas estações comerciais de piscicultura e laboratórios de pesquisa. Quando realizadas de maneira inadequada, geram consequências desastrosas aos animais, como mortalidade em massa ou doenças (INOUE & MORAES, 2006).

A adição de anestésicos à água de transporte vem sendo proposta também para o matrinxã, espécie de importância comercial, como uma maneira prática de se prevenir o estresse (URBINATI & CARNEIRO, 2001; INOUE et al., 2005).

Segundo INOUE et al. (2005), essas substâncias anestésicas parecem reduzir estresse ao tranquilizar os exemplares, diminuir a movimentação excessiva e a percepção de estímulos adversos provenientes do manejo (movimentação da água nas embalagens e choques entre os indivíduos adensados). Como consequência, ocorreria diminuição do metabolismo e do estresse, com aumento das chances de sucesso do transporte. No entanto, o uso de anestésicos deve ser avaliado com critério, pois concentrações altas associadas ao tempo de exposição prolongado trazem riscos aos próprios peixes (IWAMA & ACKERMAN, 1994).

Por ser um produto de baixo custo e disponível no mercado, a benzocaína é um dos anestésicos mais utilizados na piscicultura brasileira (INOUE et al., 2002). Seus efeitos sobre o metabolismo de peixes tropicais têm sido estudados, principalmente no que concerne à indução de anestesia e preventivo ao estresse de transporte em caixas para esse fim (GOMES et al., 2001; CARNEIRO & URBINATI, 2001; INOUE et al., 2002). Em peixes, a benzocaína é eliminada do tecido muscular em torno de 24h após a exposição (HONCZARYK & INOUE, 2010). Sua atuação como preventivo ao estresse em peixes parece ocorrer por ação direta nos canais de sódio, de modo a evitar a transmissão dos impulsos nervosos e promover a diminuição do gradiente de transição de permeabilidade do sódio nas membranas nervosas (GIMBO et al., 2008). Em vista disso, foi estudado o efeito da benzocaína nas respostas metabólicas de juvenis de matrinxã submetidos ao transporte em sacos plásticos.

MATERIAL E MÉTODOS

Juvenis de matrinxã com média \pm desvio padrão de $143,7 \pm 1,0$ g e $21,4 \pm 0,06$ cm foram estocados por um mês em 12 aquários experimentais de 250L, com abastecimento de água em sistema fechado, equipados com filtro de areia e aquecedor central, numa densidade de 10 peixes/caixa, biomassa correspondente a 7,2g/L de volume útil de cada aquário experimental. Os parâmetros físico-químicos da água foram monitorados diariamente e mantidos em temperatura de $25,7 \pm 0,9$ °C, oxigênio dissolvido $5,66 \pm 0,07$ mg/L, pH 6,8, condutividade $74,3 \pm 4,8$ µS.cm e amônia $0,5 \pm 0,24$ mg/L. Os peixes foram alimentados duas vezes ao dia até a saciedade aparente com ração comercial extrusada, à base de 30 % de proteína bruta e grânulos de 4mm. Vinte e quatro horas antes do início do experimento, a oferta da alimentação foi cessada.

Os tanques experimentais foram numerados aleatoriamente para se perfazer quatro tratamentos com três repetições cada: controle, onde os peixes não sofreram estresse de transporte, ou seja, não foram transportados em nenhum momento do experimento; estresse de transporte sem benzocaína diluída na água; estresse de transporte sob 10mg/L de benzocaína e; estresse de transporte sob 15mg/L de benzocaína. Ao longo do experimento foram realizadas três coletas de animais: antes do transporte com amostragem de três peixes por tanque com nove animais por tratamento; após 6h de transporte com o mesmo número de animais; após 24h de recuperação ao estresse, também com nove peixes por tratamento. Cinco gramas de benzocaína foram previamente diluídas em 50mL de etanol PA, para obtenção

de “solução mãe” com 100mg/mL (INOUE et al. 2002). O transporte foi realizado em sacos plásticos de 50x85cm supridos com 5L de água, aos quais foram adicionadas inicialmente as devidas alíquotas de “solução mãe” de benzocaína, seguidas da transferência dos peixes. Os sacos foram insuflados com oxigênio puro e imediatamente lacrados. O transporte foi simulado em

caminhonete aberta por 6h (de 9h às 15h), com monitoramento dos parâmetros de qualidade da água antes e logo após o transporte (Tabela 1). Em seguida, os peixes foram parcialmente amostrados e o restante retornaram aos tanques de origem, nas mesmas condições iniciais do experimento, para a recuperação ao manejo de transporte.

Tabela 1. Variáveis físicas e químicas da água após 6h de transporte em sacos plásticos sob influência da benzocaína

Tratamentos	T °C	O.D. (mg/L)	pH	NH ₄ (mg/L)
Controle	26,0±0,2	7,9±0,25 ^a	7,4±0,01 ^a	0,4±0,02 ^a
0mg/L benzocaína	25,8±0,2	11,9±3,9 ^b	5,9±0,18 ^b	11,9±3,9 ^b
10mg/L benzocaína	25,7±0,1	14,3±1,3 ^b	5,9±0,02 ^b	14,3±1,3 ^b
15mg/L benzocaína	25,7±0,1	16,1±2,6 ^c	5,9±0,06 ^b	16,1±2,6 ^c

Dados apresentados com suas médias ± desvio padrão. Controle verificado antes do transporte; demais valores após 6h de transporte. 0mg/L, 10mg/L e 15mg/L correspondem às concentrações de benzocaína utilizadas na água de transporte. T °C= temperatura; O.D. = oxigênio dissolvido; NH₄ = amônia.

Letras sobrescritas diferentes significam diferenças (P<0,05) entre os grupos.

Os animais amostrados foram eutanasiados por perfuração exata da fontanela craniana com uma tesoura bem afiada. A coleta de sangue foi feita por punção caudal com seringas de 3mL e agulha 25x0,7, previamente heparinizadas. O sangue foi centrifugado a 12000g por 3 min para obtenção de plasma. Após a coleta de sangue, os peixes foram dissecados para retirada de fragmentos de fígado e músculo branco. Essas amostras foram separadamente armazenadas em tubos plásticos para estocagem em nitrogênio líquido e posteriores análises.

No plasma, foram determinados colorimetricamente: glicose (TRINDER, 1969), lactato (HARROWER & BROWN, 1972), proteína total (KRUGER, 1994), amônia (GENTZKOW & MAZEN, 1942), cloreto (APHA, 1980) e cortisol (kit

analítico - DSL/Gênese). As determinações de sódio (Na⁺) e potássio (K⁺) foram feitas por fotometria de chama. Nas amostras de fígado e músculo branco foi determinado o teor de glicogênio (BIDINOTTO et al., 1997).

Amostras de água dos tanques experimentais e das embalagens utilizadas no transporte foram coletadas para análise de temperatura e oxigênio dissolvido (Oxímetro YSI mod. 55), pH (pHmetro Oreon mod. 710) e amônia (GENTZKOW & MAZEN, 1942).

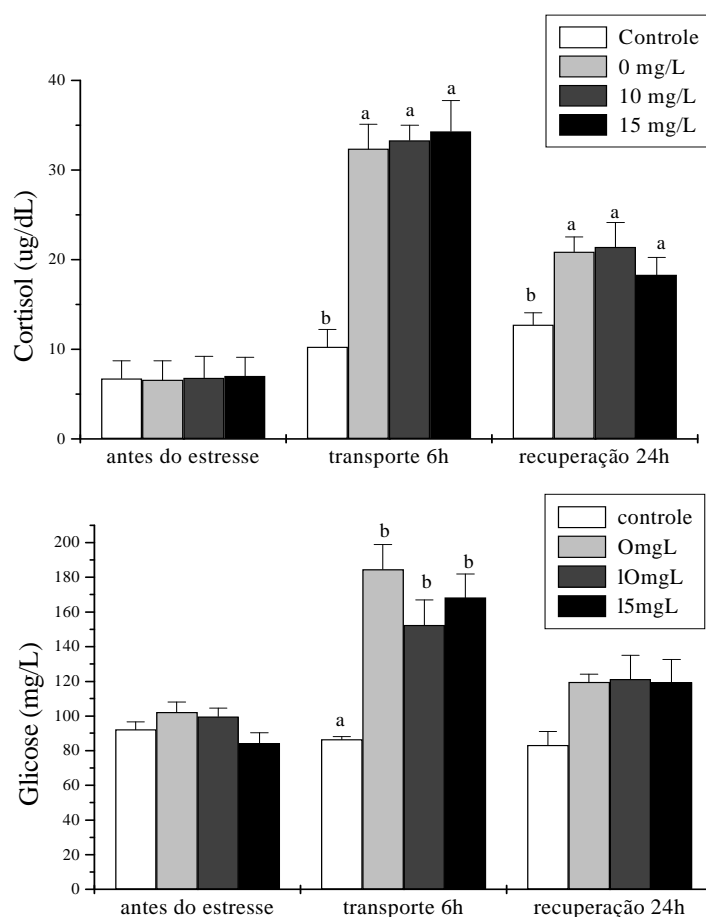
Os tratamentos foram comparados antes do transporte, após o transporte e 24 horas de recuperação e entre os diferentes horários de amostragem. Os dados foram submetidos à análise de variância e, quando houve diferença significativa entre os grupos, aplicou-se o teste de Tukey para comparação das médias, com adoção do nível de confiança P < 0,05

(Graph Pad Instat Version 3.0, win 95/NT, 1997). A análise de variância foi feita a partir das medidas repetidas no tempo para verificação das respostas metabólicas do matrinxã ao longo do experimento.

RESULTADOS

Não foi observada mortalidade de peixes ao longo do período experimental. O

cortisol plasmático nos peixes submetidos às 6h de transporte aumentou de aproximadamente 6 para 33 μ g/dL, independentemente da presença de benzocaína (Figura 1A). Após 24h de recuperação, o cortisol mostrou redução de 30%. Após o transporte, a concentração basal de glicose plasmática, em torno de 95mg/dL, aumentou para 180-160mg/dL em todos os grupos amostrados, com retorno aos valores basais após 24h de recuperação (Figura 1B).



Letras sobrescritas diferentes significam diferenças ($P < 0,05$) entre os grupos.

Figura 1. Cortisol e glicose plasmática (média \pm DP) em juvenis de *Brycon amazonicus*, submetidos ao estresse de transporte por 6 h em sacos plásticos sob efeito de benzocaína (10 e 15 mg/L), seguido de recuperação por 24 h em condições idênticas ao início do experimento

A concentração de lactato plasmático de aproximadamente 1,4mM nos grupos controle aumentou após o transporte nos grupos de peixes transportados sem benzocaína para 4,2mM, com retorno aos valores basais após a recuperação de 24h (Figura 2A). A concentração basal de amônia plasmática, de cerca de 2,6mM, aumentou após o transporte para cerca de 5,5mM, independentemente da adição de benzocaína, de forma a retornar aos valores basais após 24h de recuperação (Figura 2B). O conteúdo de glicogênio

muscular permaneceu constante em torno de 12μmol de glicosil-glicose/g de tecido durante todo o experimento. O conteúdo de glicogênio hepático diminuiu 30% após o transporte, apesar de não ter sido redução significativa, com retorno aos valores semelhantes ao grupo controle após 24h de recuperação, com queda do glicogênio hepático em todos os tratamentos em relação aos valores observados no início do experimento (Figura 2C).

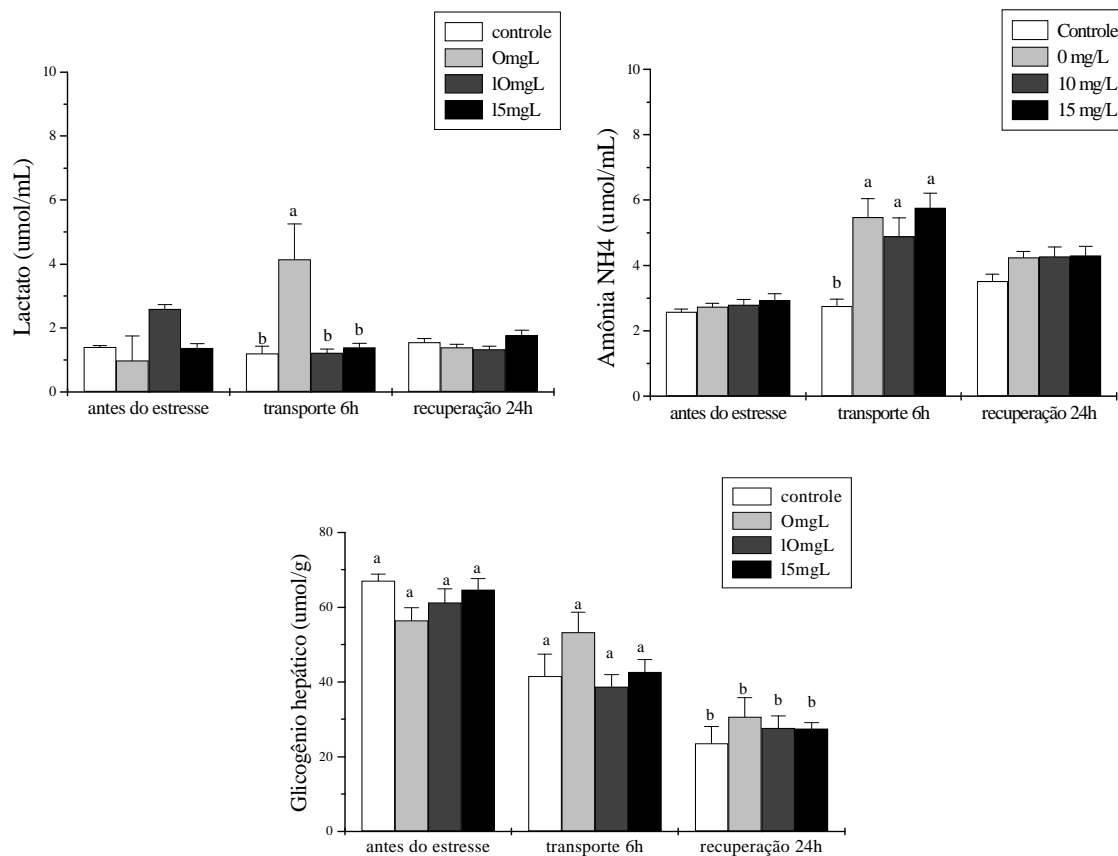


Figura 2. Concentrações de amônia, lactato plasmáticos e glicogênio hepático (média ± DP) em juvenis de *Brycon amazonicus*, submetidos a estresse de transporte em sacos plásticos por 6h sob efeito de benzocaína (10 e 15mg/L), seguido de recuperação por 24 h em condições idênticas ao início do experimento. Letras sobrescritas diferentes significam diferenças (P<0,05) entre os grupos e tempos.

A temperatura da água permaneceu constante durante todo o experimento (25,8°C); os teores de amônia, oxigênio

dissolvido e valores de pH apresentaram-se elevados após 6h de transporte,

independentemente da presença de benzocaína (Tabela 1).

Os teores de Na^+ ($161 \pm 3,6\text{mM}$), K^+ ($3,3 \pm 0,3\text{mM}$), Cl^- ($132,3 \pm 3,5\text{mM}$) e proteína plasmática ($44,1 \pm 2,3\text{mg/ml}$) não se alteraram.

DISCUSSÃO

As reações fisiológicas ao estresse ocorrem naturalmente no ambiente aquático e podem ser positivas aos organismos, quando esses rapidamente reagem e fogem, ou se adaptam às novas condições ambientais (DAVIS, 2006). Imediatamente após a percepção de um estímulo adverso pelo sistema nervoso central, catecolaminas e cortisol são liberados na corrente sanguínea. O cortisol é o principal mediador dos mecanismos bioquímicos para disponibilizar energia adicional ao organismo em condições adversas (MOMMSEN et al., 1999). Em peixes tropicais, como o matrinxã submetido ao transporte, seria esperado que os valores plasmáticos de cortisol retornassem aos níveis basais em aproximadamente 24h após estresse (CARNEIRO & URBINATI, 2001; INOUE & MORAES, 2006). O uso de anestésicos atenua as respostas cortisolêmicas, com diminuição e/ou inibição do seu aumento e, conseqüentemente, da concentração dos metabólitos que o acompanham para atender à demanda energética aumentada (CARNEIRO & URBINATI, 2001; INOUE et al., 2005). Sua utilização parece assim reduzir estresse ao tranquilizar os indivíduos por diminuir sua movimentação excessiva e percepção de estímulos provenientes do manejo. Todavia, parece que é necessário ao peixe perder totalmente a percepção, para que o cortisol não apareça como resposta ao estresse, ou seja, é necessário que o peixe

atinga o II ou III grau de anestesia (INOUE et al., 2002), para que se observe esse efeito. Entretanto, se a dose de anestésico na água de transporte for muito alta, os danos podem ser ainda maiores (mortalidade por super-dosagem, danos branquiais, perda de muco etc). Um exemplo é o *Centropristis striata* que apresenta redução do cortisol apenas quando anestesiado até o estágio II com óleo de cravo (KING V et al., 2005). Isso reforça a observação de que o estágio I de anestesia não é suficiente para promover reduções nos parâmetros metabólicos que evidenciam o estresse.

Apesar de se supor que os anestésicos, até mesmo a benzocaína, diminuam as conseqüências metabólicas do manejo, com atenuação da resposta de aumento do cortisol, esse fato não foi observado no presente estudo. Houve elevação na concentração de cortisol, independente da concentração de benzocaína adicionada à água de transporte. Após 24h de recuperação, embora com queda dos valores cortisolêmicos, esses ainda não retornaram aos basais, o que indica que os peixes podem não ter restabelecido completamente a homeostase inicial desse estudo.

É possível inferir que a adição de 10 ou 15mg/L de benzocaína para o transporte de juvenis de matrinxã se mostrou ineficiente na redução da cortisolemia durante e após o transporte, pois os exemplares transportados sem benzocaína apresentaram os mesmos índices plasmáticos. Em outro trabalho, matrinxã submetido a doses de 5, 10 e 20mg/L de benzocaína também apresentou valores altos de cortisol após 4 h de transporte em caixas de 200L (CARNEIRO et al., 2002). Existem ainda outros estudos com matrinxã que mostram aumentos do cortisol e glicose plasmática em juvenis de matrinxã submetidos ao transporte em caixas (CARNEIRO & URBINATI, 2001; URBINATI & CARNEIRO, 2001).

É provável que as concentrações de benzocaína utilizadas neste trabalho, bem como em outros (CARNEIRO & URBINATI, 2001; URBINATI & CARNEIRO, 2001), não tenham sido suficientes para prevenir os distúrbios ocasionados pelo estresse de transporte. Todavia, sabe-se que concentrações de benzocaína a partir de 20mg/L induzem estágio avançado de anestesia em matrinxã e podem ser deletérias à espécie durante o transporte, o que pode levar ao aumento de células de defesa, aparecimento de parasitas e morte de animais (CARNEIRO et al., 2002; INOUE et al., 2002). Esse conjunto de dados não nos permite assumir a benzocaína como um agente preventivo ao estresse de transporte em concentrações de 10 a 15mg/L, consideradas os seus parâmetros usuais de avaliação.

O aumento das concentrações de glicose, amônia e lactato no plasma é também observado como resposta ao estresse em consequência da elevação do cortisol (MOMMSEN et al., 1999). Animais sob estresse apresentam aumento das concentrações plasmáticas de cortisol e catecolaminas. O cortisol, ao agir sobre o fígado, aumenta a glicogenólise e a liberação de glicose, enquanto que as catecolaminas aumentam também a liberação de lactato pelos tecidos periféricos. O aumento de glicose, causado pela elevação de cortisol, atende à demanda metabólica imposta pelo estresse, o qual eleva o metabolismo energético em situações de fuga ou adaptação da espécie à condição estressante (CARNEIRO et al., 2002; INOUE et al., 2005). O aumento das concentrações de amônia plasmática pode ser devido à proteólise aumentada pelas mesmas razões metabólicas. O aumento desses intermediários (glicose, amônia e lactato plasmático), observado neste trabalho, nos faz supor que, tal como

discutido com o perfil de cortisol, a benzocaína não só não atenuou as respostas ao estresse de transporte nas condições testadas, mas também elevou a demanda metabólica.

O aumento de lactato é evidente em um momento particular do experimento, a situação pós-transporte na ausência de benzocaína. Esse aumento da concentração de lactato pode ser devido à movimentação excessiva dos animais nessas condições, com elevação do metabolismo anaeróbico para atender à demanda energética imposta pelo transporte (IWAMA et al., 2004). É interessante observar no presente trabalho que os níveis de lactato permaneceram inalterados nas outras condições experimentais, o que sugere que os níveis de catecolaminas podem não ter sido alterados pelo estresse quando em presença de benzocaína. O lactato gerado pela supermovimentação dos exemplares de matrinxã aumentaria a gliconeogênese (WEYTS et al., 1999).

O aumento da concentração de amônia plasmática após o estresse de transporte e sua permanência elevada mesmo após 24h de recuperação sugerem um aumento do catabolismo protéico e/ou desbalanceamento da excreção nitrogenada. Alterações nas concentrações de amônia e proteína plasmática podem estar relacionadas com o aumento de cortisol plasmático, já que sua elevação causa aumento da gliconeogênese e da atividade do catabolismo de proteínas (MOMMSEN et al., 1999).

Observou-se ainda uma redução hepática dos teores de glicogênio. Deve ser levado em conta que os peixes durante o experimento propriamente dito estiveram sob jejum de 54h (24h antes do experimento, 6 h de transporte e mais 24h durante a recuperação). A manutenção do metabolismo glicídico nesses animais durante o período experimental deve ter sido a principal causa da redução

significativa dos estoques de glicogênio no fígado.

A presença de cortisol e de catecolaminas também aumenta os batimentos cardíacos e operculares, o que por sua vez altera as taxas de troca de água nas brânquias, bem como os níveis plasmáticos de Na⁺, Cl⁻ e K⁺ e proteína (IWAMA et al., 2004; MOMMSEN et al., 1999). Em estudo com matrinxãs adultos, submetidos ao transporte em caixas de 200L sob influência da benzocaína, foram encontradas alterações iônicas (CARNEIRO & URBINATI, 2001; URBINATI & CARNEIRO, 2001). Todavia, neste trabalho os valores de Na⁺, Cl⁻, K⁺ e proteína plasmática não sofreram alterações significativas. Esses resultados sugerem maior resistência dos indivíduos jovens dessa espécie ao estresse de transporte, ou condições menos estressantes no presente estudo em comparação com os de Carneiro & Urbinati (2001) e Urbinati & Carneiro (2001).

Com relação às variáveis físicas e químicas da água após 6 h de transporte, pode-se dizer que a alta taxa de adensamento nas embalagens foi o fator que predispôs ao aumento de amônia na água do transporte. É possível que a densidade de estocagem das embalagens sem benzocaína já fosse bastante alta, de modo que não fosse recomendado aumento do número de indivíduos numa mesma embalagem mesmo com adição do anestésico. No que se refere ao pH, a diminuição que foi observada deve-se provavelmente ao efeito do gás carbônico liberado pela respiração dos animais durante o transporte. Os teores altos de oxigênio dissolvido são devidos à injeção de oxigênio puro nas embalagens do transporte, aparentemente não prejudiciais ao matrinxã. Com o uso do anestésico, o consumo de oxigênio foi menor, o que manteve os valores ainda mais altos de oxigênio nesses grupos.

Dentro das condições do presente trabalho, conclui-se que a benzocaína apresentou pouco efeito preventivo ao estresse no transporte de juvenis de matrinxã. Ao contrário, as doses utilizadas podem levar a um estresse adicional provavelmente por sofrimento respiratório. Todavia, a presença de benzocaína nas concentrações utilizadas pode ter reduzido a liberação de catecolaminas com efeitos favoráveis sobre o equilíbrio hidro-eletrolítico. Diferentes concentrações devem ainda ser testadas para se observar outras possíveis consequências fisiológicas em matrinxã submetido ao transporte em sacos plásticos.

REFERÊNCIAS

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION - APHA. **Standard methods for determinations of water and wastes**. 12.ed. Washington, DC: Join Editorial Board, 1980. [[Links](#)].

BIDINOTTO, P.M.; SOUZA, R.H.S.; MORAES, G. Hepatic glycogen in eight tropical freshwater teleost fish: a procedure for field determinations of microsamples. **Boletim Técnico do Cepta**, v.10, p.53-60, 1997. [[Links](#)].

CARNEIRO, P.C.F.; URBINATI, E.C.; MARTINS, M.L. Transport with different benzocaine concentrations and its consequences on hematological parameters and gill parasite population of matrinxã *Brycon cephalus* (Günther, 1869) (Osteichthyes, Characidae). **Acta Scientiarum**, v.24, n.2, p.555-560, 2002. [[Links](#)].

CARNEIRO, P.C.F.; URBINATI, E.C. Plasma electrolyte disturbance in matrinxã, *Brycon cephalus*, transported under influence of benzocaine. **Journal of Applied Aquaculture**, v.11, n.4, p.1-13, 2001. [[Links](#)].

DAVIS, K. Management of physiological stress in finfish aquaculture. **North American Journal of Aquaculture**, v.68, p.116-121, 2006. [[Links](#)].

GENTZKOW, C.J.; MASEN, J.M. An accurate method for the determination of blood urea nitrogen by direct nesslerization. **Journal of Biological Chemistry**, v.143, p.531-544, 1942. [[Links](#)].

GIMBO, R.; SAITA, M.; GONÇALVES, A.; TAKAHASHI, L. Diferentes concentrações de benzocaína na indução anestésica do lambari-do-rabo-amarelo (*Astyanax altiparanae*). **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.9, n.2, p.350-357, 2008. [[Links](#)].

GOMES, L.; CHIPARI-GOMES, A.; LOPES, N.; ROUBACH, R.; ARAUJO-LIMA, C. Efficacy of benzocaine as an anesthetic in juvenile tambaqui *Colossoma macropomum*. **Journal of World Aquaculture Society**, v.32, n.4, p.426-431, 2001. [[Links](#)].

HARROWER, J.R.; BROWN, C.H. Blood lactic acid. A micromethod adapted to field collection of microliter samples. **Journal of Applied Physiology**, v.32, n.5, p.709-711, 1972. [[Links](#)].

HONCZARYK, A.; INOUE, L.A.K.A. Anestesia do pirarucu por aspersão da benzocaína diretamente nas brânquias. **Ciência Rural**, v.40, n.1, 2010. [[Links](#)].

INOUE, L.A.K.A.; SANTOS-NETO, C.; MORAES, G. Benzocaína como anestésico para juvenis de matrinxã (*Brycon cephalus*). **Boletim Técnico do Cepta**, v.15, p.23-30, 2002. [[Links](#)].

INOUE L.A.K.A.; AFONSO L.; IWAMA G. MORAES G. Effects of clove oil on the stress response of matrinxã (*Brycon cephalus*) subjected to transport. **Acta Amazonica**, v.35, n.2, p.145-151, 2005. [[Links](#)].

INOUE, L.A.K.A.; MORAES, G. Stress of matrinxã (*Brycon cephalus*) subjected to transport in plastic bags. **Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v.1, n.1, p.1-9, 2006. [[Links](#)].

IWAMA, G.; ACKERMAN, A. Anaesthetics. In: HOCHACHKA, P.; MOMMSEN, T. (Eds.) **Analytical Techniques in Biochemistry and Molecular Biology of Fishes**. Amsterdam: Elsevier Science, 1994. p.1-15. [[Links](#)].

IWAMA, G.; AFONSO, L.O.B.; TODGHAM, A.; ACKERMAN, P.; NAKANO, K. Are Hsps suitable for indicating stressed states in fish? **Journal of Experimental Biology**, v. 207, p.15-19, 2004. [[Links](#)].

KING V, W.; HOOPER, B.; HILLSGROVE, S. 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. [[Links](#)].

KRUGER, N. The Bradford method for protein quantification. **Methods in Molecular Biology**, v.32, p.9-15, 1994. [[Links](#)].

MOMMSEN T.; VIJAYAN M.; MOON T. Cortisol in teleosts: dynamics, mechanisms of actions, and metabolic regulation. **Reviews in Fish Biology and Fisheries**, v.9, p.211-268, 1999. [[Links](#)].

TRINDER, P. Determination of glucose in blood using glucose oxidase with an alternative oxygen acceptor. **Analytic Clinic Biochemistry**, v.6, p.24-27, 1969. [[Links](#)].

URBINATI, E.C., CARNEIRO, P.C.F. Metabolic and hormonal responses of matrinxã, *Brycon cephalus*, (Teleost: Characidae) to stress of transport under influence of benzocaine. **Journal of aquaculture in the tropics**, v.16, n.1, p.75-85, 2001. [[Links](#)].

WEYTS, F.A.A.; COHEN, N.; FLIK, G; VERBURG-VAN KEMENADE, B. M. L. Interactions between the immune system and the hypothalamo-pituitary-interrenal axis in fish. **Fish & Shellfish Immunology**, v.9, p.1-20, 1999. [[Links](#)].

Data de recebimento: 28/09/2009

Data de aprovação: 10/08/2010