

# AVALIAÇÃO DE 2-FENOXIETANOL E MENTOL COMO AGENTES ANESTÉSICOS EM TILÁPIAS

Raquel de Andrade MELLO <sup>1</sup>; Leandro Santos Costa <sup>2</sup>; Daniel OKAMURA <sup>3</sup>;  
Felipe Guedes de ARAÚJO <sup>4</sup>; Paula Adriane Perez RIBEIRO <sup>5</sup>; Fábio Mathias CORRÊA <sup>6</sup>;  
Priscila Vieira e ROSA <sup>7</sup>

## RESUMO

Este estudo teve como objetivo determinar o tempo de indução e recuperação em tilápias nilóticas (*Oreochromis niloticus*) submetidas aos anestésicos 2-fenoxietanol e mentol. Foram avaliadas cinco concentrações anestésicas do 2-fenoxietanol (0,45 mL L<sup>-1</sup>; 0,60 mL L<sup>-1</sup>; 0,75 mL L<sup>-1</sup>; 0,90 mL L<sup>-1</sup>; 1,05 mL L<sup>-1</sup>) e mentol (50 mg L<sup>-1</sup>; 75 mg L<sup>-1</sup>; 100 mg L<sup>-1</sup>; 125 mg L<sup>-1</sup>; 150 mg L<sup>-1</sup>), em juvenis machos revertidos de tilápia. Os experimentos foram desenvolvidos independentemente, em delineamento inteiramente casualizado (DIC), compostos de cinco tratamentos para cada anestésico e 20 repetições (peixes) por tratamento. A indução e a recuperação da anestesia foram divididas em três estágios, de acordo com o comportamento dos peixes sob efeito do anestésico, registrando-se o tempo de permanência em cada estágio. As variáveis limnológicas da água foram controladas (pH e oxigênio dissolvido). Para análise estatística, foi utilizado um modelo linear generalizado com distribuição gama. A partir deste estudo, podemos concluir que, para juvenis de tilápias nilótica sob as mesmas condições de manutenção, com o aumento da concentração de 2-fenoxietanol e mentol, ocorre uma redução do tempo de indução e recuperação anestésica. As concentrações de 0,90 mL L<sup>-1</sup> de 2-fenoxietanol e 125 mg L<sup>-1</sup> de mentol foram adequadas para indução anestésica em tilápias para fins de manejo.

**Palavras chave:** Anestésico; concentração; estágio anestésico; peixe; *Oreochromis niloticus*

## EVALUATION OF 2-PHENOXYETHANOL AND MENTHOL AS ANAESTHETIC AGENT IN TILAPIA

### ABSTRACT

This study aimed to determine the induction and recovery time in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*), submitted to the anaesthetic agents 2-phenoxyethanol and menthol. Five concentrations were evaluated of the 2-phenoxyethanol (0.45 mL L<sup>-1</sup>; 0.60 mL L<sup>-1</sup>; 0.75 mL L<sup>-1</sup>; 0.90 mL L<sup>-1</sup>; 1.05 mL L<sup>-1</sup>) and menthol (50 mg L<sup>-1</sup>; 75 mg L<sup>-1</sup>; 100 mg L<sup>-1</sup>; 125 mg L<sup>-1</sup>; 150 mg L<sup>-1</sup>) in masculinized juvenile tilapia. The experiments were conducted independently in a completely randomized design (CRD), consisting of five treatments for each anaesthetic and 20 repetitions (fish) per treatment. The induction and recovery from anesthesia were divided into three stages, according to the fishes' behavior under the effect of the anesthetic, recording the length of time for each stage. Limnological parameters of water were controlled (pH and dissolved oxygen). Statistical analysis was performed using a generalized linear model with gamma distribution. From this study, it is possible to conclude that, for Nile tilapia juvenile under the same conditions of maintenance, with increasing concentration of 2-phenoxyethanol and menthol there is a reduction in the time of anesthetic induction and recovery. Concentrations of 0.90 mL L<sup>-1</sup> of 2-phenoxyethanol and 125 mg L<sup>-1</sup> of menthol were suitable for anesthetic induction in tilapia.

**Key words:** Anesthetic; concentration; anesthetic stage; fish; *Oreochromis niloticus*

**Artigo Científico:** Recebido em 26/08/2011 – Aprovado em 25/01/2012

<sup>1</sup> Mestranda. Universidade Federal de Lavras, Departamento de Ciências Veterinárias – DMV/UFLA. Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias. Cx. Postal 3037 - CEP: 37.200-000 - Lavras - MG - Brasil. email: raquel.amello@hotmail.com (autor correspondente)

<sup>2</sup> Aluno de graduação em Zootecnia. Universidade Federal de Lavras, Departamento de Zootecnia – DZO/UFLA

<sup>3</sup> Pós-doutorando da Universidade Federal de Lavras, Departamento de Zootecnia – DZO/UFLA

<sup>4</sup> Aluno de doutorado do curso de Zootecnia da Universidade Federal de Lavras, Departamento de Zootecnia – DZO/UFLA

<sup>5</sup> Professora adjunta. Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG. Escola de Medicina Veterinária

<sup>6</sup> Professor assistente. Universidade Estadual de Santa Cruz – UESC. Departamento de Ciências Exatas e da Terra

<sup>7</sup> Professora Associada. Universidade Federal de Lavras, Departamento de Zootecnia – DZO/UFLA

## INTRODUÇÃO

O primeiro relato do uso de anestésicos em peixes foi em 1930 (HOSKONEN e PIRHONEN, 2004), para facilitar o manejo e reduzir o estresse (ROSS e ROSS, 2008). Na aquicultura, os anestésicos mais utilizados são o 2-fenoxietanol (WEBER *et al.*, 2009) e o mentol (GONÇALVES *et al.*, 2008).

Os anestésicos são administrados via imersão dos peixes em solução anestésica. A solução anestésica é captada pelas brânquias, principal rota de absorção e eliminação de anestésicos, difunde-se para o sangue, que o conduz até o sistema nervoso central (SNC) (ROSS e ROSS, 2008).

Pouco se sabe sobre o modo de ação preciso dos anestésicos em peixes. Porém, acredita-se que seja similar à anestesia inalatória utilizada em animais terrestres (UETA *et al.*, 2007). MUSSHOF *et al.* (1999) verificaram que o 2-fenoxietanol inibe a atividade dos receptores de glutamato do tipo NMDA (N-methyl-D-aspartate), reduzindo a dor. Já o mentol, de acordo com WATT *et al.* (2008), atua modulando a atividade do ácido gama-aminobutírico A (GABA<sub>A</sub>).

Os critérios utilizados para escolha dos anestésicos levam em consideração o custo, a disponibilidade no mercado, facilidade de uso com baixos riscos para os animais e o homem, além do menor tempo de indução (3 min) e recuperação (5 min) (ROSS e ROSS, 2008).

A determinação do tempo adequado para que o animal chegue a um determinado estágio anestésico é de fundamental importância no planejamento do manejo que será utilizado na piscicultura (ROUBACH e GOMES, 2001).

A tilápia (*Oreochromis niloticus*) é a terceira espécie mais cultivada no mundo (FAO, 2008). Juvenis e alevinos são acometidos por uma série de agentes estressores, como captura, superpopulação, mudanças bruscas de temperatura, manuseio, barulho excessivo e transporte. Além disso, a espécie apresenta espinhos ósseos nas nadadeiras, que frequentemente provocam ferimentos nos técnicos. Assim, o uso de anestésicos durante o manejo é necessário para a tilápia, não somente para a redução do estresse no animal, como para o

aumento da segurança no manuseio dessa espécie. Diante disso, o presente estudo teve como objetivo determinar o tempo de indução e recuperação de tilápias nilóticas, submetidas ao 2-fenoxietanol e ao mentol.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no laboratório de Nutrição de Peixes da Universidade Federal de Lavras - UFLA, entre os meses de abril e maio de 2010.

Foram utilizados juvenis machos revertidos de tilápia nilótica (*Oreochromis niloticus*), distribuídos aleatoriamente em 10 caixas de polipropileno, com capacidade para 250 L, em sistema fechado de recirculação e aeração constante de água, sendo aclimatados por 15 dias. As médias das variáveis liminológicas da água, verificadas diariamente nos tanques de aclimação, foram: pH =  $7,3 \pm 1,0$  (kit colorimétrico comercial Labcon Test®), temperatura =  $28,0 \pm 1,0$  °C (sonda pt 100 acoplada a um controlador de temperatura (N540) do próprio sistema de recirculação da água) e oxigênio dissolvido =  $6,5 \pm 0,8$  dL L<sup>-1</sup> (oxímetro digital portátil), sendo auferido às 8 e 16 horas.

Durante este período, os animais receberam ração comercial contendo 32% de proteína bruta, duas vezes por dia. As caixas foram sifonadas para retirada de fezes e restos de ração duas vezes ao dia, uma no período da manhã (8 horas) e outra no período da tarde (16 horas).

A avaliação de indução e recuperação anestésica do 2-fenoxietanol e mentol foi realizada em experimentos independentes. As concentrações de 2-fenoxietanol e mentol foram testadas a partir dos resultados observados em ZAHL *et al.* (2009) e SIMÕES e GOMES (2009), respectivamente. ZAHL *et al.* (2009) utilizaram 0,25 mL L<sup>-1</sup> de 2-fenoxietanol como agente sedativo em bacalhau (*Gadus morhua*) com diferentes pesos (10, 100 e 1000 g). Já SIMÕES e GOMES (2009) utilizaram cinco concentrações de mentol (50, 100, 150, 200, 250 e 300 mg L<sup>-1</sup>), em tilápia do nilo de aproximadamente 14 g. No presente trabalho, foram utilizadas as concentrações de 0,45, 0,60, 0,75, 0,90 e 1,05 mL L<sup>-1</sup> de 2-fenoxietanol em tilápias com peso de  $82,4 \pm$

20,7 g, e de 50, 75, 100, 125 e 150 mg L<sup>-1</sup> de mentol em tilápias pesando 63,3 ± 21,6 g, pois concentrações acima de 150 mg L<sup>-1</sup> de mentol induzem ao estresse (SIMÕES e GOMES, 2009).

As concentrações dos agentes anestésicos foram preparadas poucos minutos antes de cada experimento anestésico, por meio da diluição em volume constante de álcool (92,8°GL), sendo 15 mL

de álcool para o 2-fenoxietanol e 22 mL de álcool para o mentol.

Para os ensaios experimentais, os peixes foram considerados anestesiados e recuperados ao atingirem um conjunto de sinais peculiares, característicos ao estágio três da anestesia, de acordo com OKAMURA *et al.* (2010), conforme ilustrado no Quadro 1.

**Quadro 1.** Características comportamentais em peixes, em três estágios de anestesia e recuperação.

Estágio	Indução	Recuperação
1	Movimento natatório reduzido, reação a estímulos externos e equilíbrio normal	Leve recuperação do movimento opercular e dos movimentos natatório
2	Perda do movimento muscular e do equilíbrio, redução do movimento opercular e dos reflexos a estímulos externos	Recuperação do equilíbrio e leve reação a estímulos externos
3	Perda total dos reflexos a estímulos externos e movimento opercular quase ausente	Recuperação total

Fonte: OKAMURA *et al.* (2010)

Para cada dosagem testada, foram utilizados 20 juvenis (n = 20), coletados aleatoriamente e submetidos, individualmente, ao banho anestésico, totalizando 100 peixes/anestésico. Antes do processo de anestesia, os animais permaneceram em jejum por 24 h. Os experimentos foram realizados no período diurno, em aquários de vidro com capacidade para 20 L, preenchidos com 15 L de água.

Foi cronometrado e registrado o tempo para atingir os estágios de indução e de recuperação anestésica pelo animal. Logo que atingiam o estágio anestésico 3 (anestesia profunda), os peixes foram pesados e transferidos para outro aquário de vidro, com mesmas proporções, preenchido com 15 L de água isenta de anestésico, para avaliação da recuperação da anestesia. Os experimentos foram desenvolvidos independentemente, em delineamento inteiramente casualizado (DIC), compostos de cinco tratamentos (concentrações de anestésico por litro de água) e 20 repetições (peixes) por tratamento, sendo cada peixe avaliado individualmente. Para análise do tempo de indução e recuperação foi utilizado um modelo linear generalizado com distribuição gama, representado por:

$$\log(E[y_{ij}]) = \mu + t_i + t_i^2 + e_{ij}$$

sendo:

$y_{ij}$  = observação referente à concentração  $i$  na repetição  $j$

$\mu$  = constante representada pela média geral;

$t_i$  = efeito da concentração de anestésico  $i$  ( $i = 1, \dots, 5$ );

$t_i^2$  = efeito quadrático da concentração de anestésico  $i$  ( $i = 1, \dots, 5$ );

$e_{ij}$  = desvio associado a cada observação que, por hipótese, tem distribuição normal com média zero e variância  $\sigma^2$ .

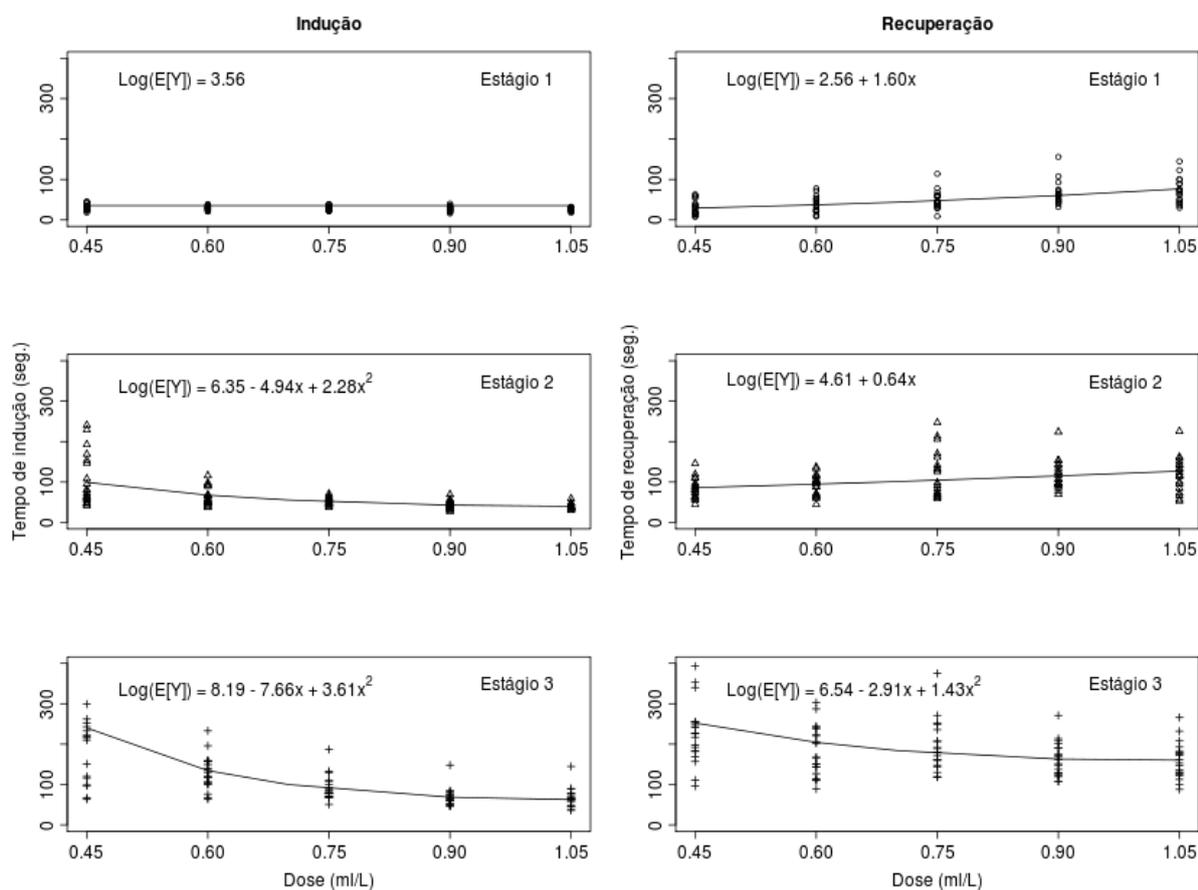
O software utilizado para as análises foi o R.2.13.1 (R Development Core Team, 2011).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em geral foi observado que, com os anestésicos testados, o tempo de indução e recuperação foi decrescente com o aumento da concentração (Figuras 1 e 2). No entanto, para o 2-fenoxietanol, o aumento da concentração promoveu uma redução no tempo de passagem do estágio 1 para o estágio 2 quanto à indução anestésica (Figura 1A). As tilápias expostas ao 2-fenoxietanol e ao mentol passaram sequencialmente por todos os estágios de

anestesia em todas as concentrações testadas. O mesmo comportamento foi observado com catfish (*Silurus glanis* L.), quando anestesiados com 2-fenoxietanol nas concentrações de 0,3-1,1 mL L<sup>-1</sup> (VELÍŠEK *et al.*, 2007), tambaquis (*Colossoma*

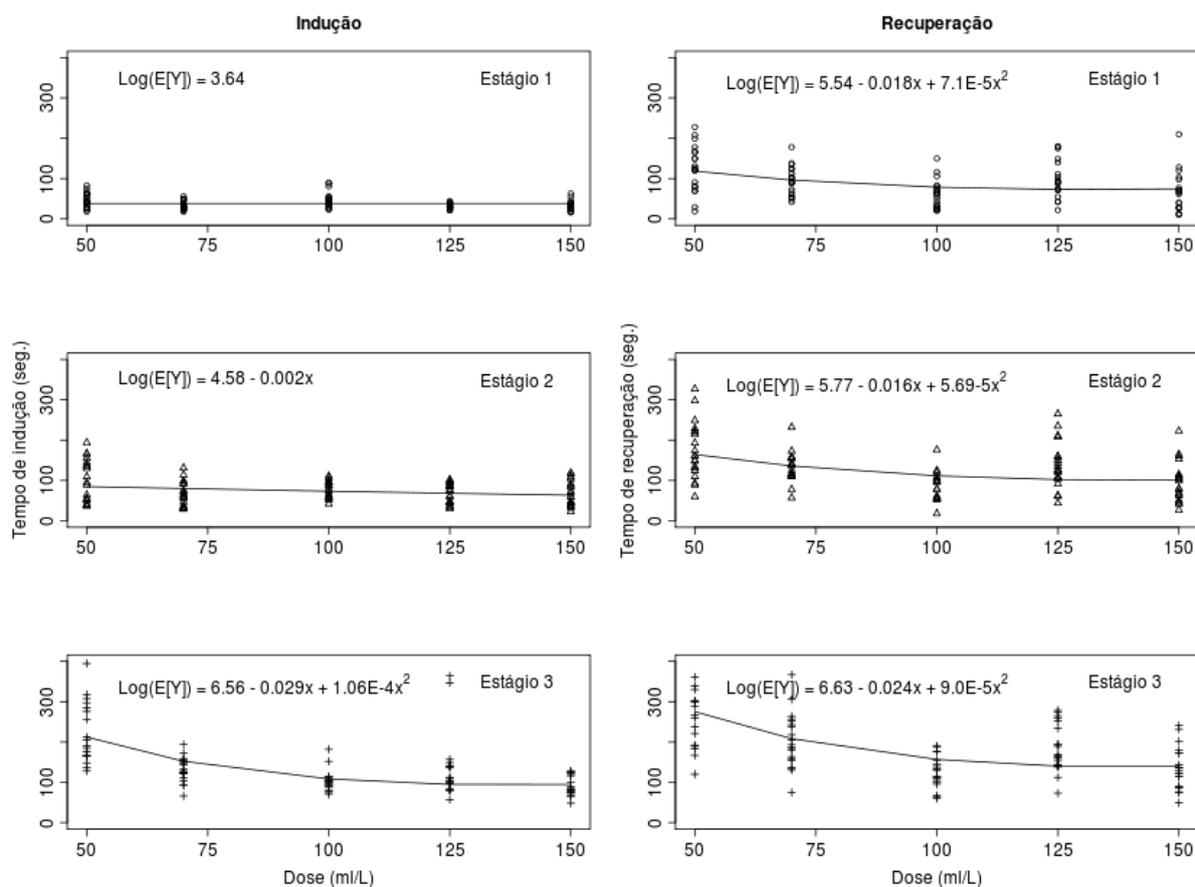
*macropomum*), quando anestesiados com mentol (50-250 mg L<sup>-1</sup>) (FAÇANHA e GOMES, 2005) e bacalhau (*Gadus morhua*), quando anestesiados com 0,25 mL L<sup>-1</sup> de 2-fenoxietanol (Z AHL *et al.*, 2009).



**Figura 1.** Tempo estimado de indução e recuperação de tilápias submetidas a diferentes concentrações de 2-fenoxietanol.

Com o incremento da concentração, o tempo de indução é reduzido e depois ocorre uma estabilização. Resultados semelhantes foram observados por MYLONAS *et al.* (2005), acompanhando a ação do 2-fenoxietanol (200 mg L<sup>-1</sup>; 300 mg L<sup>-1</sup>; 400 mg L<sup>-1</sup>) em juvenis de perca (*Dicentrarchus labrax*) e robalo (*Sparus aurata*). O mesmo foi verificado por WEBER *et al.* (2009) ao anestesiarem linguado (*Solea senegalensis*) em dosagens variando entre 50-100 mg L<sup>-1</sup> de 2-fenoxietanol. Os resultados encontrados para o mentol diferem dos observados por SIMÕES e GOMES (2009), pois os autores constataram

sedação completa em peixes a partir de concentrações maiores que 150 mg L<sup>-1</sup> e redução dos movimentos operculares em concentrações acima de 100 mg L<sup>-1</sup> de mentol. Porém, variações na temperatura e no peso do peixe influenciam no tempo de indução e recuperação anestésica (Z AHL *et al.*, 2009). No entanto, as diferenças observadas na concentração de mentol utilizada por SIMÕES e GOMES (2009) quanto à indução anestésica e as encontradas no presente estudo, podem estar relacionadas às variações que podem ocorrer em indivíduos da mesma espécie (HIKASA *et al.*, 1986).



**Figura 2.** Tempo estimado de indução e recuperação de tilápias submetidas a diferentes concentrações de mentol.

Com o incremento na concentração de 2-fenoxietanol ocorre um aumento no tempo para que os animais atinjam os estágios 1 e 2 de recuperação anestésica. No entanto, o animal atinge o estágio 3 em menor tempo e a passagem do estágio 2 para o 3 também é reduzida. HISANO *et al.* (2008) não encontraram diferenças significativas no tempo de recuperação, entre a concentração mínima e máxima utilizada, 20 e 60 mg L<sup>-1</sup>, de óleo de cravo em juvenis de dourado (*Salminus brasiliensis*), porém, observaram redução no tempo de indução anestésica com o aumento da concentração. Já a utilização de concentrações crescentes de mentol proporcionou uma redução no tempo para que os animais atingissem os estágios 1, 2 e 3 de recuperação anestésica. VELÍŠEK *et al.* (2007), ao utilizarem 2-fenoxietanol com catfish, encontram resultados diferentes destes, pois com o aumento da concentração, os animais demoraram mais para se recuperar, não

ocorrendo estabilização da concentração sobre os tempos de recuperação. FAÇANHA E GOMES (2005), ao anestesiarem juvenis de tambaqui com mentol, encontraram uma relação inversa a encontrada neste estudo, ou seja, com o aumento da concentração (100 mg L<sup>-1</sup> para 150 mg L<sup>-1</sup>), os animais demoravam mais para se recuperar, e só a partir da concentração de 150 mg L<sup>-1</sup>, deixava de influenciar os tempos de recuperação. Porém, a partir da dosagem de 0,9 mL L<sup>-1</sup> para 2-fenoxietanol e 125 mg L<sup>-1</sup> para mentol, a diferença de tempo para a maior dosagem passa a não ser significativa para fins de manejo.

Em todas as cinco concentrações testadas de 2-fenoxietanol e mentol não houve efeito da concentração no tempo de indução para chegada ao estágio 1. Os animais tratados com 0,45 mL L<sup>-1</sup> de 2-fenoxietanol e 50 mg L<sup>-1</sup> de mentol permaneceram no segundo estágio de indução

por tempo maior que as demais concentrações e também demoraram mais para atingir o estágio 3 de anestesia.

Foi relatado por KING *et al.* (2005), ao anestésiar corvinas com óleo de cravo, que a liberação dos corticosteróides concentra-se no estágio 2 de anestesia, portanto, quanto mais breve a passagem por esta etapa, menor seria a liberação dessas substâncias pelo organismo. No entanto, o mecanismo de como isto acontece ainda não foi esclarecido e mais estudos devem ser realizados para os outros agentes anestésicos.

De acordo com outros trabalhos, a indução ao último estágio de anestesia é obtida mais rapidamente em concentrações superiores a 150 mg L<sup>-1</sup> de mentol para tilápias (SIMÕES e GOMES, 2009) e tambaqui (FAÇANHA e GOMES, 2005). Estes resultados são semelhantes aos encontrados no presente estudo com mentol, em que o tempo de indução ao estágio 3 foi mais rápido em concentrações acima de 125 mg L<sup>-1</sup>.

Todas as dosagens de 2-fenoxietanol e mentol estudadas proporcionaram tempo de recuperação compatível com o limite ideal para um anestésico sugerido por KEENE *et al.* (1998).

## CONCLUSÕES

Para juvenis de tilápias, mantidos sob as mesmas condições, com o aumento da concentração de 2-fenoxietanol e mentol, ocorre uma redução do tempo de indução e recuperação anestésica para atingir o estágio 3 de cada fase.

A partir das concentrações de 0,90 mL L<sup>-1</sup> de 2-fenoxietanol e 125 mg L<sup>-1</sup> de mentol, ocorre uma estabilização no tempo de indução e recuperação anestésica.

As concentrações de 0,90 mL L<sup>-1</sup> de 2-fenoxietanol e 125 mg L<sup>-1</sup> de mentol são adequadas para fins de manejo.

## REFERÊNCIAS

FAÇANHA, M.F. e GOMES, L.C. 2005 A eficácia do mentol como anestésico para tambaqui (*Colossoma macropomum*, Characiformes: Characidae). *Acta Amazônica*, Manaus, 35(1): 71-75.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAO). 2008 The State of World Fisheries and Aquaculture (SOFIA). Disponível em: <<http://www.fao.org/fishery/sofia/en>> Acesso em: 23 set. 2009.

GONÇALVES, A.F.N.; SANTOS, E.C.C.; FERNANDES, J.B.K.; TAKAHASHI, L.S. 2008 Mentol e eugenol como substitutos da benzocaína na indução anestésica de juvenis de pacu. *Acta Scientiarum. Animal Sciences*, Maringá, 30(3): 339-344.

HIKASA, Y.; TAKASE, K.; OGASAWARA, T.; OGASAWARA, S. 1986 Anesthesia and recovery with tricaine methanesulfonate, eugenol and thiopental sodium in the carp. *Cyprinus Carpio. Nippon Juigaku Zasshi*, Towada, 48(2): 341-351.

HISANO, H; ISHIKAWA, M.M; FERREIRA, R.A.; BULGARELLI, A.L.A; COSTA, T.R.; PADUA, S.B. 2008 Tempo de indução e de recuperação de dourados *Salminus brasiliensis* (Cuvier, 1916) submetidos a diferentes concentrações com óleo de cravo *Eugenia* sp. *Acta Scientiarum: Biological Sciences*, Maringá, 30(3):303-307.

HOSKONEN, P. e PIRHONEN, J. 2004 Temperature effects on anaesthesia with clove oil in six temperate-zone fishes. *Journal of Fish Biology*, Scotland, 64: 1136-1142.

KEENE, J.I.; NOAKES, D.I.G.; MOCCIA, R.D.; SOTO, C.G. 1998 The efficacy of clove oil as an anaesthetic for rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Aquaculture Research*, Oxford, 29: 89-101.

KING, W.V.; HOOPER, B.; HILLSGROVE, S.; BENTON, C.; BERLINSKY, D.L. 2005 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*, Oxford, 36: 1442-1449.

MUSSHOFF, U.; MADEJA, M.; BINDING, N.; WITTING, U.; SPECKMANN, E.J. 1999 Effects of 2-phenoxyethanol on N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptor-mediated ion currents. *Archives of Toxicology*, Germany, 73: 55-59.

- MYLONAS, C.; CARDINALETTI, G.; SIGELAKI, I.; POLZONETTIMAGNI, A. 2005 Comparative efficacy of clove oil and 2-phenoxyethanol as anesthetics in the aquaculture of European sea bass and gilthead sea bream at different temperatures. *Aquaculture*, Amsterdam, 246(1-4): 467-481.
- OKAMURA, D.; ARAÚJO, F.G.; ROSA, P.V.; FREITAS, R.T.F.; MURGAS, L.D.S.; CESAR, M.P. 2010 Influência da concentração de benzocaína e do comprimento dos peixes na anestesia e na recuperação de tilápias-do-nylo. *Revista Brasileira de Zootecnia*, Viçosa, 39(5): 971-976.
- R Development Core Team . 2011 R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Disponível em: <<http://www.R-project.org>>
- ROSS, L.G. e ROSS, B. 2008 *Anaesthetic and sedative techniques for aquatic animals*. 3ª ed. Oxford: Blackwell Science, 236p.
- ROUBACH, R. e GOMES, L.C. 2001 O uso de anestésicos durante o manejo de peixes. *Panorama da Aquicultura*, Rio de Janeiro, 11(66): 37-40.
- SIMÕES, L.N. e GOMES, L.C. 2009 Eficácia do mentol como anestésico para juvenis de tilápiado-nylo (*Oreochromis niloticus*). *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, Belo Horizonte, 61(3): 613-620.
- UETA, K.; SUZUKI, T.; SUGIMOTO, M.; UCHIDA, I.; MASHIMO, T. 2007 Local anesthetics have different mechanisms and sites of action at recombinant 5-HT<sub>3</sub> receptors. *Regional Anesthesia and Pain Medicine*, Schaumburg, 32: 462-470.
- VELÍŠEK, J.; WLASOW T.; GOMULKA, P.; SVOBODOVA, Z.; NOVOTNY, L. 2007 Effects of 2- anaesthesia on sheatfish (*Silurus glanis* L.). *Veterinarni Medicina*, Czech, 52(3): 103-110.
- WATT, E.E.; BETTS, B.A.; KOTEY, F.O.; HUMBERT, D.J.; GRIFFITH, T.N.; KELLY, E.W.; VENESKEY, K.C.; GILL, N.; ROWAN, K.C.; JENKINS, A.; HALL, A.C. 2008 Menthol shares general anesthetic activity and sites of action on the GABA<sub>A</sub> receptor with the intravenous agent, propofol. *European Journal of Pharmacology*, Netherlands, 590(1/3): 120-126.
- WEBER, R.A.; PELETEIRO, J.B.; GARCÍA MARTÍN, L.O.; ALDEGUNDE, M. 2009 The efficacy of 2-phenoxyethanol, metomidate, clove oil and MS-222 as anaesthetic agents in the Linguado (*Solea senegalensis* Kaup 1858). *Aquaculture*, Amsterdam, 288: 147-150.
- ZAHL, I.H.; KIESSLING, A.; SAMUELSEN, O.B.; HANSEN, M.K. 2009 Anaesthesia of Atlantic cod (*Gadus morhua*) – Effect of pre-anaesthetic sedation, and importance of body weight, temperature and stress. *Aquaculture*, Amsterdam, 295: 52-59.