

## Eugenol como anestésico para el manejo de juveniles del híbrido *Pseudoplatystoma metaense* por *Leiarius marmoratus*

### Eugenol as an Anesthetic for Handling Hybrid *Pseudoplatystoma metaense* by *Leiarius marmoratus*

### Eugenol como um anestésico para o híbrido *Pseudoplatystoma metaense* × *Leiarius marmoratus*

Roger O. Suárez-Martínez<sup>1</sup>; Geral F. Bernal-Buitrago<sup>1</sup>, Juan S. Velasco-Garzón<sup>1</sup>;  
Miguel A. Pinzón-Daza<sup>1</sup>; Pedro R. Eslava-Mocha<sup>2</sup>; Bernardo Baldisserotto<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Estudiante Maestría en Acuicultura de los Llanos (IALL), Universidad de los Llanos - Km 12 Vía Puerto López Villavicencio, Meta - Colombia

<sup>2</sup> MV,MSc, Instituto de Acuicultura de Los Llanos (IALL) Doctorado en Ciencias Agrarias: Fisiología de Peces – Universidad de Los Llanos – km 12 Vía Pto. López Villavicencio, Meta- Colombia

<sup>3</sup> Oceanógrafo, PhD, Departamento de Fisiología e Farmacología – Universidade Federal de Santa Maria, RS – Brasil  
Email: bbaldisserotto@hotmail.com

**Recibido:** octubre 30 de 2014

**Aceptado:** noviembre 24 de 2014

#### Resumen

El objeto de ese trabajo fue establecer una concentración anestésica óptima de eugenol para la manipulación de los juveniles híbridos de *Pseudoplatystoma metaense* por *Leiarius marmoratus* (PxL) y determinar la sobrevivencia posterior a la anestesia (24 horas). Cuarenta juveniles del híbrido PxL ( $9,3 \pm 2,75$  g y  $9,08 \pm 0,8$  cm) provenientes de los estanques de la estación IALL obtenidos de un mismo desove fueron expuestos al eugenol (85% de pureza en base oleosa) (30, 50, 60 y 70 mg/L) y un grupo control (etanol 0.8 ml/L). Los especímenes de cada grupo experimental (n= 8 peces), fueron seleccionados al azar y sometidos individualmente a cada tratamiento en un acuario con capacidad de 10L y recuperados en agua corriente. Los parámetros de calidad de agua determinados para el experimento fueron Temperatura  $28, 3 \pm 0,12^{\circ}\text{C}$ , OD:  $2,3 \pm 8,0$  mg/L y pH:  $5,4 \pm 0,32$ . Ninguno de los tratamientos causo mortalidad (100% de sobrevivencia). Los tiempos de inducción medidos para las concentraciones 50, 60 y 70 mg/L fueron significativamente inferiores a los registrados para la concentración de 30 mg/L en la cual se presentaron tiempos de inducción por encima de los 400 segundos. Aunque ninguna de las concentraciones produjo daños en la recuperación de los animales, en consideración con los tiempos de inducción-recuperación anestésica se concluye que la concentración de 50 mg/L de eugenol es la más recomendable para la manipulación de híbridos PxL.

**Palabras clave:** anestesia, Siluriformes, aceite de clavo, manejo de peces.

#### Abstract

The purpose of this study was to establish the optimal anesthetic concentration of eugenol for handling hybrid juvenile *Pseudoplatystoma metaense* by *Leiarius marmoratus* (PxL) and subsequent survival (24 hours). Forty juveniles youth PxL hybrid ( $9.3 \pm 2.75$  g and  $9.08 \pm 0.8$  cm) from the ponds of IALL station obtained from the same spawning were exposed to eugenol (85% purity in oil base) (30, 50, 60 and 70 mg / L) and a control group (ethanol 0.8 ml / L). Specimens of each

experimental group (n = 8 fish) were randomly selected and individually subjected to each treatment in an aquarium with a capacity of 10L and recovered in fresh water. The quality parameters determined for the experiment were: water temperature  $28.3 \pm 0.12^\circ\text{C}$ , OD:  $2.3 \pm 8.0 \text{ mg / L}$  and pH  $5.4 \pm 0.32$ . None of the treatments caused mortality (100% survival). Induction times measured for levels 50, 60 and 70 mg / L were significantly lower than those recorded for the concentration of 30 mg / L in which induction times were over 400 seconds. Although none of the concentrations produced damage to the recovery of the animals, in consideration of the time of induction of anesthesia-recovery, it is concluded that the concentration of 50 mg / L of eugenol is recommended for handling hybrid PxL.

**Key words:** anesthesia, Siluriformes, clove oil, fish management.

## Resumo

O objetivo deste estudo foi estabelecer a concentração anestésica ideal de eugenol para manuseio de juvenis do híbrido *Pseudoplatystoma metaense* x *Leiarius marmoratus* (PxL) e a sobrevivência pós-anestesia (24 horas). Quarenta juvenis do híbrido PxL ( $9,3 \pm 2,75 \text{ g}$  e  $9,08 \pm 0,8 \text{ cm}$ ) foram obtidos a partir da mesma desova em tanques de cultivo no lall e expostos a eugenol (85% de pureza em base de óleo) (30, 50, 60 e 70 mg / L) e um grupo control (etanol a 0,8 ml / L). Os exemplares de cada grupo experimental (n = 8 peixes) foram selecionados aleatoriamente e submetidos individualmente a cada tratamento em um aquário com capacidade de 10 L e recuperados em água corrente. Os parâmetros de qualidade determinados para a experiência foram: temperatura  $28,3 \pm 0,12^\circ\text{C}$ , OD:  $2,3 \pm 8,0 \text{ mg / L}$  e pH de  $5,4 \pm 0,32$ . Nenhum dos tratamentos causou mortalidade (100% de sobrevivência). Tempos de indução medidos para os níveis de 50, 60 e 70 mg / L foram significativamente menores que os registrados para a concentração de 30 mg / L, no qual o tempo de indução foi maior que 400 segundos. Embora nenhuma das concentrações tenha produzido dano para a recuperação dos animais, tendo em consideração o tempo de indução da anestesia e recuperação, conclui-se que a concentração de 50 mg / L de eugenol é recomendada para o manuseio de híbridos PxL.

**Palavras-chave:** anestesia, Siluriformes, óleo de cravo, manuseio de peixes.

## Introducción

Actividades relacionadas con la piscicultura como la pesca, el empaque, el transporte y la reproducción son factores generadores de estrés. El estrés es una condición en que la homeostasis es amenazada o interrumpida como resultado de estímulos intrínsecos o extrínsecos comúnmente conocidos como agentes estresantes (Chrousos y Gold, 1992). En un intento de conservar el equilibrio, el individuo realiza ajustes en el eje hipotálamo-hipófisis-interrenal, generando un efecto mediador de las catecolaminas y del cortisol, los cuales conducen a un reordenamiento de la energía lejos de la reproducción y del crecimiento, así como a efectos supresores en las funciones inmunológicas (Wendelaar Bonga, 1997). Con el fin de contrarrestar los efectos indeseables del estrés asociados a la manipulación, diferentes anestésicos han sido empleados en peces en actividades asociadas a la piscicultura: MS-222 (Pirhonen y Schreck, 2003), 2-fenoxietanol (Mylonas, Cardinaletti, Sigelaki, Polzonetti-Magni, 2005) benzo-caína y metomidato (Iversen, Finstad, McKinley, Eliassen, 2003). El eugenol, [2-metoxi-4-(2-(2-profenil)-fenol)] es el principio activo del aceite de clavo; que se obtiene de las hojas, las flores y los tallos de los árboles de clavo (*Eugenia caryophyllata* Thunberg y *Eugenia aromatica* Baill.) (Soto y Burhanuddin, 1995), y ha sido empleado con frecuencia en acuicultura como sedante y anestésico para peces: *Pterophyllum scalare* (Mitjana et al., 2014), *Solea senegalensis* (Weber, Peleteiro, Martín, Aldegunde, 2009).

La producción de híbridos inter-genéricos de la familia *Pimelodidae* ha surgido como una alternativa para la producción acuícola con silúridos en donde una de las limitantes es el levante de alevinos debido al gran cannibalismo existente en etapas de larva y postlarva. Diversos cruces entre géneros carnívoros como el bagre rayado *Pseudoplatystoma spp*, con algunos géneros que contienen especies omnívoras como son el yaque *Leiarius marmoratus* (Gill, 1870) y el *Pimelodus blochii* (Valenciennes, 1840), han sido logrados exitosamente desde hace más de una década (Kossowski, 1991, 1996 1999), existiendo una gran expectativa entre los productores para el uso comercial de este híbrido. En Colombia hasta el momento no cuentan con autorización oficial para cultivarlo. El presente trabajo se realizó con el objeto de establecer una concentración anestésica óptima para la manipulación de los juveniles híbridos de *Pseudoplatystoma metaense* (hembras) por *Leiarius marmoratus* (machos) (PxL); y determinar la sobrevivencia posterior a la anestesia (24 horas).

## Materiales y métodos

**Localización:** El experimento se llevó a cabo en las instalaciones de la sala de reproducción del Instituto de Acuicultura de Los Llanos – Universidad de Los Llanos, localizado en el km. 12 vía Villavicencio – Puerto López en el Departamento del Meta - Colombia.

**Material biológico:** Un total de 40 juveniles del híbrido P<sub>x</sub>L (9,3 ± 2,75gy 9.08 ± 0.8 cm) provenientes de los estanques de la estación IALL obtenidos de un mismo desove.

**Concentraciones anestésicas:** El eugenol (85% de pureza en base oleosa) producto de Laboratorios eufar®, fue disuelto a razón de 1:10 (eugenol:etanol), con el fin de permitir la solubilidad en el agua. Los tratamientos experimentales fueron de 30, 50, 60 y 70 mg/L y un grupo control (etanol 0.8 mL/L). Los especímenes de cada grupo experimental (n=8 peces), fueron seleccionados al azar y sometidos individualmente a cada concentración en un acuario de 10L y recuperados en agua corriente en otro acuario de 40L.

**Determinación de la concentración óptima de eugenol:** En cada pez se determinó el tiempo de inducción anestésica (tiempo en alcanzar la fase III de la anestesia); así como el tiempo de recuperación (Tabla 1). De igual manera se determinó la sobrevivencia a las 24 horas post-tratamiento.

**Tabla 1.** Fases de la anestesia en peces.

Fase	Descripción
I	Sedación leve: disminución de la reacción a estímulos externos
II	Sedación profunda: Pérdida parcial del equilibrio, nado errático
III	Anestesia leve: Pérdida total del equilibrio, fin de la locomoción
IV	Anestesia profunda: Colapso medular

Se consideró como concentración anestésica óptima la mínima que produce los efectos esperados de inmovilidad rápida sin colapso medular y con rápida recuperación. La inmovilidad rápida se define como la pérdida total del equilibrio y fin de la locomoción (Fase III), en un tiempo inferior a tres minutos (3 min), de acuerdo con Small (2003) con Small.

**Parámetros de calidad de agua:** Tanto al inicio como al final del periodo experimental se evaluaron los parámetros de calidad de agua: temperatura (T), oxígeno disuelto (OD) y pH (Sonda YSI ref. OD 200 / pH 100)

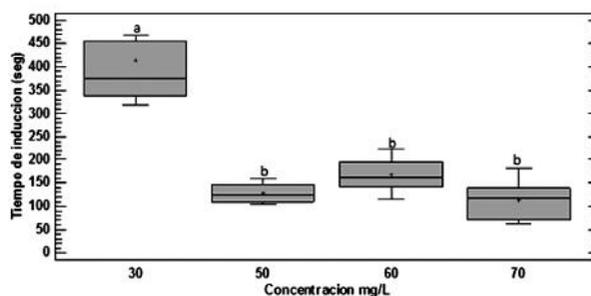
**Análisis estadístico:** Para el experimento se utilizó un diseño completamente al azar (DCA). El análisis estadístico se realizó con un análisis de variancia simple en el programa estadístico SPSS® Statistics versión 21, para la comparación de medias se utilizó una prueba de Tukey, considerando valores de  $p \leq 0.05$  como indicadores de diferencia significativa entre los tratamientos.

## Resultados y discusión

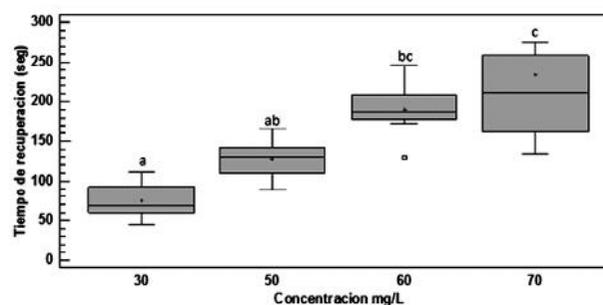
Los parámetros de calidad de agua determinados para el experimento fueron los siguientes:  $T= 28,3 \pm 0.12^{\circ}\text{C}$ ,  $OD=2,3 \pm 8,0 \text{ mg/L}$ ; y  $pH= 5,4 \pm 0,32$ . Al finalizar el experimento e incluso en las 24 horas posteriores no se presentó mortalidad alguna, incluido el grupo control.

Los tiempos de inducción medidos para las concentraciones 50, 60 y 70 mg/L fueron significativamente inferiores a los registrados para la concentración de 30 mg/L, en la cual se presentaron tiempos de inducción por encima de los 400 s. No se encontraron diferencias estadísticas entre los tratamientos de 50, 60 y 70 mg/L (Figura 1).

Por otra parte, los tiempos de recuperación mostraron una tendencia lineal con respecto a las concentraciones anestésicas aplicadas. En cuanto al tiempo de recuperación anestésica se presentaron diferencias significativas entre los tratamientos de mayor y menor concentración, mientras que entre las concentraciones de 50 y 60 mg/L no se encontraron diferencias estadísticas significativas (Figura 2). De acuerdo con el criterio establecido para concentración óptima se propone la concentración de 50 mg/L como la indicada ya que presenta el menor tiempo de recuperación luego de una inducción efectiva inferior a los 3 minutos.



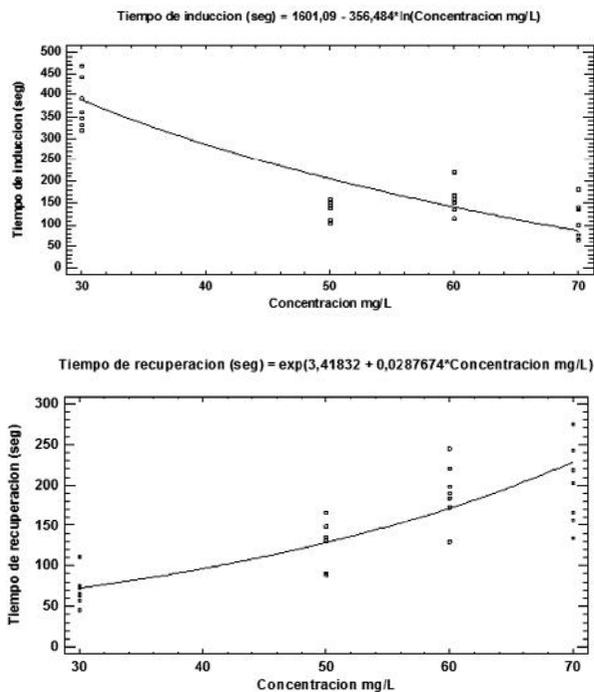
**Figura 1.** Tiempo de inducción anestésica con eugenol en el híbrido P<sub>x</sub>L. Letras diferentes indican diferencias significativas  $p \leq 0.05$



**Figura 2.** Tiempo de recuperación anestésica al eugenol en el híbrido P<sub>x</sub>L. Letras diferentes indican diferencias significativas  $p \leq 0.05$

La concentración óptima establecida en este trabajo coincide con otros reportados para silúridos por Oliveira Vidal, Branco Albinati, Luscher Albinati, and Rodamilans de Mecêdo (2006) para *Pseudoplatystoma corruscans* (50 mg/L), Alves da Cunha et al. (2010) en *Rhamdiaquelen* (50mg/L) y Öğretmen and Gökçek (2013) en *clariasgariepinus* (50 mg/L)

Aunque ninguna de las concentraciones causó daños en la recuperación de los animales, en consideración con los tiempos de inducción-recuperación anestésica se concluye que la concentración de 50 mg/L de eugenol es la más segura para la manipulación de híbridos PXL, por un tiempo máximo de 3 minutos.



$R^2 = 0.6947$ . Modelo para describir la relación entre tiempo de inducción vs. Concentración eugenol

$R^2 = 0.7014$ . Modelo exponencial para describir la relación entre tiempo de recuperación vs. Concentración eugenol.

**Figura 3.** Gráficos de regresión con todos los datos transformados

## Referencias

Cunha AM, Zeppenfeld C, de Oliveira Garcia L, Loro V, Braga da Fonseca M, Emanuel T, Baldisserotto B. Anesthesia of silver catfish with eugenol: Time of induction, cortisol response and sensory analysis of fillet. *Ciencia Rural*. Santa María. 2010; 40(10): 2107-2114.

Chrousos GP, Gold PW. The concepts of stress and stress system disorders. Overview of physical and behavioral homeostasis. *JAMA*. 1992; 267(9):1244-1252.

Iversen M, Finstad B, McKinley RS, Eliassen RA. The efficacy of metomidate, clove oil, aqui-s™ and benzoak® as anaesthetics in atlantic salmon (*salmo salar* L.) smolts, and their potential stress-reducing capacity. *Aquaculture*. 2003; 221(1-4): 549-566. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S0044-8486\(03\)00111-X](http://dx.doi.org/10.1016/S0044-8486(03)00111-X)

Kossowski. Experiencias iniciales sobre la hibridación de *leiarus marmoratus* (gill) 1871 por *pseudoplatystoma fasciatum* (linnaeus) 1766 (pisces, siluriformes, pimelodidae). *Acta Cient Venez*. 1991;42:48-50.

Kossowski. Reproducción inducida del bagre cajaro y avances sobre su hibridación con dos especies de pimelodidos (pisces, siluriformes). *Bioagro*. 1996;8:4-20.

Kossowski. Perspectivas del cultivo de bagre en venezuela. En Congreso Sur-Americano de Acuicultura, 2°. Puerto La Cruz (Venezuela). Memorias Tomo I. 287-297.

Mitjana O, Bonastre C, Insua D, Falceto MV, Esteban J, Josa A, Espinosa E. The efficacy and effect of repeated exposure to 2-phenoxyethanol, clove oil and tricaine methanesulphonate as anesthetic agents on juvenile angelfish (*pterothylus scalare*). *Aquaculture*. 2014;433(0):491-495. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2014.07.013>

Mylonas CC, Cardinaletti G, Sigelaki 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*. 2005;246(1-4):467-481. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2005.02.046>

Öğretmen F, Gökçek K. Comparative efficacy of three anesthetic agents on juvenile african catfish, *clarias gariepinus* (burchell, 1822). *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 2013;13:51-56.

Oliveira Vidal L, Branco Albinati R, Luscher Albinati A, Rodamilans de Mecêdo G. Utilização do eugenol como anestésico para o manejo de juvenis de pintado (*pseudoplatystoma corruscans*). *Acta Scientiarum Biological Sciences (Brasil)*. 2006;28(3):275-279.

Pirhonen J, Schreck CB. Effects of anaesthesia with ms-222, clove oil and co2 on feed intake and plasma cortisol in steelhead trout (*oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*. 2003;220(1-4):507-514. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/S0044-8486\(02\)00624-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0044-8486(02)00624-5)

Small BC. Anesthetic efficacy of metomidate and comparison of plasma cortisol responses to tricaine methanesulfonate, quinaldine and clove oil anesthetized channel catfish *ictalurus punctatus*. *Aquaculture*. 2003; 218(1-4 177-185):177-185.

Soto CG, Burhanuddin. Clove oil as a fish anaesthetic for measuring length and weight of rabbitfish (*siganus lineatus*). *Aquaculture*. 1995; 136(1-2):149-152. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/0044-8486\(95\)01051-3](http://dx.doi.org/10.1016/0044-8486(95)01051-3)

Weber RA, Peleteiro JB, Martín LOG, Aldegunde M. The efficacy of 2-phenoxyethanol, metomidate, clove oil and ms-222 as anaesthetic agents in the senegalese sole (*solea senegalensis* kaup 1858). *Aquaculture*. 2009;288(1-2):147-150. doi: 10.1016/j.aquaculture.2008.11.024

Wendelaar Bonga SE. The stress response in fish. *Physiol Rev*. 1997;77(3):591-625.