



ARTÍCULO ORIGINAL / ORIGINAL ARTICLE

EUGENOL COMO ANESTÉSICO PARA LABORES DE
MANIPULACIÓN DE *XIPHOPHORUS HELLERI* (HECKEL, 1848)
(CYPRINODONTIFORMES: POECILIDAE)

EUGENOL AS ANESTHETIC
FOR HANDLING TASKS OF *XIPHOPHORUS HELLERI* (HECKEL, 1848)
(CYPRINODONTIFORMES: POECILIDAE)

Carlos Llanos^{1,2} & Carlos Scotto^{1,3}

¹Laboratorio de Mejora Genética y Reproducción Animal. Facultad de Ciencias Naturales y Matemática.
Universidad Nacional Federico Villarreal
Calle Río Chepén s/n Cuadra No 1, El Agustino, Lima, Perú.
Correo electrónico: ²catomax1987@hotmail.com, ³carlosscotto@yahoo.es

ABSTRACT

The Biologist (Lima) 8: 179-188.

The aim of this study was to perform various tests of the anesthetic efficacy of eugenol applied to different handling tasks such as artificial insemination, spawning induction, obtaining body weight and length, the conduct of operations, biopsies and transport of *Xiphophorus helleri* (Heckel, 1848). The tests were performed on 10 individual males and 10 individual females of *X. helleri* (swordfish) per three doses of eugenol. The use of this product was effective in both sexes at doses of 100, 125 and 150 mg·L⁻¹; with a total average time of anesthesia induction (T.I.) of 251.2 sec (males) and 279.5 sec (females) to 100 mg L⁻¹; 201.8 sec (males) and 257.7 sec (females) to 125 mg L⁻¹; 182.3 sec (males) and 209.4 sec (females) to 150 mg L⁻¹; and an average time of full recovery from anesthesia (T.R.) of 261.1 sec (males) and 389.8 sec (females) to 100 mg L⁻¹; 204.5 sec (males) and 213.5 sec (females) to 125 mg·L⁻¹; 255.1 sec (males) and 238.3 sec (females) to 150 mg L⁻¹. The induction of anesthesia was found by correlation analysis to be more efficient with a dose of 125 mg L⁻¹ for males and 100 mg L⁻¹ for females. Equations were linear for doses of greater efficiency: $y = 58.98x + 103.01$; $R^2 = 0.27$ (induction time vs. weight in males at a dose of 125 mg L⁻¹), $y = 85x - 136.5$; $R^2 = 0.41$ (Induction time vs. length in males at a dose of 125 mg L⁻¹), $y = 130.76x - 86.88$; $R^2 = 0.63$ (induction time vs. weight in females at a dose of 100 mg L⁻¹), $y = 219.27x - 724.74$; $R^2 = 0.54$ (length vs. time length, females at a dose of 100 mg L⁻¹). These linear equations allow a savings in time and dosage as these variables depend on the weight and length of the animals; no lethal effect on them was observed. The high efficiency at low doses and low cost, and the absence of toxicity are important parameters to consider in this type of testing.

RESUMEN

Key words: Dose, eugenol, gonopodium, *Xiphophorus helleri*.

El objetivo del presente trabajo fue realizar diversas pruebas de la eficacia anestésica del eugenol aplicadas a diferentes labores de manipulación tales como inseminación artificial, inducción del desove, la obtención de peso y longitud corporal, la realización de operaciones, biopsias y transporte de *Xiphophorus helleri* (Heckel, 1848). Las pruebas se realizaron sobre 10 individuos machos y 10 individuos hembras de *X. helleri* "pez espada" por cada tres dosis de eugenol. La utilización de este producto resultó efectiva en ambos sexos en dosis de 100, 125 y 150 mg·L⁻¹, con un tiempo promedio de inducción total de la anestesia (T.I.) de 251,2 seg (machos) y 279,5 seg (hembras) a 100 mg·L⁻¹; 201,8 seg (machos) y 257,7 seg (hembras) a 125 mg·L⁻¹; 182,3 seg (machos) y 209,4 seg (hembras) a 150 mg·L⁻¹; y un tiempo promedio de recuperación total a la anestesia (T.R.) de 261,1 seg (machos) y 389,8 seg (hembras) a 100 mg·L⁻¹; 204,5 seg (machos) y 213,5 seg (hembras) a 125 mg·L⁻¹; 255,1 seg (machos) y 238,3 seg (hembras) a 150 mg·L⁻¹. Se determinó una mayor eficiencia a la inducción de la anestesia en la dosis de 125 mg·L⁻¹ para machos y 100 mg·L⁻¹ para hembras mediante el análisis de correlación. Se obtuvieron ecuaciones lineales para las dosificaciones de mayor eficiencia: $y = 58,98x + 103,01$; $R^2 = 0,27$ (Tiempo de inducción vs Peso, en machos a una dosis de 125 mg·L⁻¹), $y = 85x - 136,5$; $R^2 = 0,41$ (Tiempo de inducción vs Longitud, en machos a una dosis de 125 mg·L⁻¹), $y = 130,76x - 86,88$; $R^2 = 0,6318$ (Tiempo de inducción vs Peso, en hembras a una dosis de 100 mg·L⁻¹), $y = 219,27x - 724,74$; $R^2 = 0,54$ (Tiempo de longitud vs Longitud, en hembras a una dosis de 100 mg·L⁻¹). Estas ecuaciones lineales permiten un ahorro en tiempo y dosificación, pues dependerán del peso y longitud de los animales. No se observó en ningún animal algún efecto letal durante la inducción de la anestesia y posterior recuperación a ésta. La alta eficacia a bajas dosis y el menor costo, así como la ausencia de toxicidad son parámetros de importancia a considerar en este tipo de pruebas con peces.

Palabras clave: Dosis, eugenol, gonopodio, *Xiphophorus helleri*.

INTRODUCCIÓN

El uso de anestesia en la investigación pesquera y en la acuicultura facilita en gran medida muchos procedimientos, incluyendo la inseminación artificial, inducción del desove, la obtención de peso y longitud corporal, la realización de operaciones, biopsias, transporte (Munday & Wilson 1997, Ross & Ross 2008) e inclusive técnicas de reproducción y mejora genética (McGovern-Hopkins *et al.* 2003). Dado que la lucha de los peces bajo anestesia es menor, la incidencia del trauma también se reduce. Al elegir un anestésico debe tomarse en cuenta una serie de consideraciones importantes como: eficacia, costo, disponibilidad, facilidad de uso y la ausencia de efectos adversos sobre peces, seres humanos y el medio ambiente (Marking & Meyer 1985, McGovern-Hopkins *et al.* 2003).

Xiphophorus helleri (Heckel, 1848) (Poeciliidae) comúnmente conocido en la acuariofilia como "Pez espada", tiene una distribución geográfica que se extiende desde el norte de México hacia el centro y occidente de Guatemala y Honduras en América Central (Axelrod & Wischnath 1991). Una de las características principales en esta especie son las variaciones en las aletas (por ejemplo aleta dorsal alta, aleta caudal lira o combinaciones de ambos), las cuales desempeñan un papel importante en la acuicultura (Tamaru *et al.* 2001).

El aceite de clavo de olor que se destila de las flores, los tallos y las hojas de *Syzygium aromaticum* (L.) Merrill & Perry, *Eugenia aromatica* (L.) Baillon o *Eugenia caryophyllata* Thunberg (Soto & Burhanuddin 1995, Kun *et al.* 1998, Jirovetz *et al.* 2006) se ha utilizado como un suave anestésico tópico desde la antigüedad y se ha empleado para ayudar con el dolor de muelas, de cabeza y de las articulaciones. Su efectividad como leve

anestesia en odontología es bien conocido. El componente principal (70-90% en peso) es el eugenol, además de poseer una amplia gama de compuestos terpenoides, los que le imparten su olor y sabor característico (Ross & Ross 2008). Además de ser un derivado fenólico, esencialmente C₁₀H₁₂O₂ (Taylor & Roberts 1999), el eugenol es fácilmente soluble en agua a temperaturas más altas con una enérgica agitación, pero a menores temperaturas se puede preparar como una solución al 10% en etanol. El eugenol ha sido utilizado como un efectivo anestésico para peces dulceacuícolas como *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792) (Endo *et al.* 1972, Taylor & Roberts 1999) y *Carassius auratus* (Linnaeus, 1758) (Endo *et al.* 1972) e inclusive en peces de aguas saladas como *Siganus lineatus* (Valenciennes, 1835) (Soto & Burhanuddin 1995), *Oncorhynchus kisutch* (Walbaum, 1792) (Taylor & Roberts 1999), *Acipenser transmontanus* (Richardson, 1836) (Taylor & Roberts 1999), *Valamugil cunnesius* (Valenciennes, 1836), *Monodactylus argenteus* (Linnaeus 1758) (Durville & Collet 2001) o en *Pomacentrus amboinensis* (Bleeker, 1868) (Munday & Wilson 1997), entre otras especies.

El objetivo del presente trabajo fue realizar diversas pruebas de eficacia anestésica y económica del eugenol sobre las labores de manipulación genética de *X. helleri*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Localización y especie de estudio

Las pruebas se realizaron en el Laboratorio de Mejora Genética y Reproducción Animal, Facultad de Ciencias Naturales y Matemática, Universidad Nacional Federico Villarreal, ubicado en Calle Río Chepén s/n Cuadra N°1, El Agustino, Lima, Perú. Se llevaron a cabo diversas experiencias de anestesia con eugenol sobre 10 individuos machos y 10 individuos hembras de diverso tamaño de *X. helleri* por

dosis, siendo un total de 30 individuos machos y 30 individuos hembras. Los peces fueron criados durante todo su tiempo de vida en los criaderos del mismo laboratorio.

Protocolo bioético internacional utilizado

El manejo de los animales de laboratorio se realizó teniendo en cuenta los siguientes principios básicos: evitar el sufrimiento innecesario de los animales, evitar riesgos del manipulador y fomentar la aplicación de la regla de las 3R (Reducción, Refinamiento y Reemplazo) (OIE 2010). Se realizó la presente experimentación de acuerdo a los delineamientos propuestos por la European Medicines Agency (2007): (a) se seleccionó a los animales más sanos de igual peso que garanticen la repetición del diseño experimental, (b) se utilizó el mismo número de animales machos y hembras y (c) se aseguró el tamaño del grupo de tratamiento para asegurar que la interpretación científica significativa de los datos generados. Además, se tenía conocimiento previo acerca de los rangos de las variables a estudiar en la especie. Para el caso del período de recuperación al anestésico, el tamaño de los grupos de tratamiento fue lo suficientemente grande para permitir que algunos animales se conservaran en la terminación del período de la administración para que la reversibilidad al final del tratamiento se pueda evaluar y (d) se obtuvo un alto nivel de la cría de animales. Las condiciones ambientales fueron controladas. La dieta y el agua fueron estandarizadas en su calidad y composición durante todo el período de estudio.

Selección de animales a trabajar

Se escogieron 60 peces juveniles saludables. Los peces fueron separados por sexo, aclimatándolos en 2 peceras de 99 x 98 x 21 cm por un periodo de tres semanas con agua de grifo disuelto con acondicionador marca Sera® 0,3 mL·L⁻¹. El agua se mantuvo en oxigenación constante, añadido a un sistema de filtro marca Resun, modelo HF-2002 de

570 L/H. La temperatura fue controlada a 24°C, pH 7,42, conductividad eléctrica 0,58 mS y promedio de solutos disueltos en el medio de 278, 14 mg·L⁻¹, con un fotoperiodo 12L/12D aproximadamente. El peso fue tomado con una balanza digital marca Kinlee, modelo EPS05 (100 g·0.01 g⁻¹) y la longitud tomada con una regla vernier marca Gimexa. La longitud fue tomada desde el extremo de la boca hasta la base del pedúnculo caudal en ambos sexos. La longitud total de los machos fue de 1,66 ± 0,25 cm y el peso fue de 4,01 ± 0,17 cm. La longitud total de las hembras fue de 2,78 ± 0,34 cm y el peso fue de 4,56 ± 0,18 cm. Se hizo distinción en los sexos de los peces para los ensayos. Estos dejaron de ser alimentados 24 h antes del ensayo (Hicks 1989).

Preparación del anestésico

El eugenol utilizado como anestésico es distribuido comercialmente por la tienda A. Tarrillo Barba S.A. (grado comercial). Las diferentes concentraciones del anestésico partieron de una solución de reserva del 10% (eugenol 1 mL + 9 mL de agua del grifo). De esta manera, al hacer una solución de trabajo de 100 mg·L⁻¹, tomamos 1 mL de la solución madre mezclándolo con un litro de agua del grifo. La solución de 125 mg·L⁻¹ es de 1,25 mL de solución madre por litro y una solución de reserva de 150 mg·L⁻¹ es de 1,5 mL por L (McGovern-Hopkins *et al.* 2003).

Inducción del anestésico sobre *X. helleri*

Los peces fueron sumergidos en 2 L de solución anestésica constituida por eugenol mezclado enérgicamente y solo con agua acondicionada a la misma temperatura del agua de donde fueron extraídos los animales (Hicks 1989), sin uso de algún disolvente orgánico (Durville & Collet 2001). Este método es llamado "anestesia por inmersión" (Brousse 1974). Se emplearon dosis de 100, 125 y 150 mg·L⁻¹, observando el comportamiento de los peces y anotando el tiempo en alcanzar las distintas fases de

anestesia (I: pérdida de equilibrio; II: pérdida de movimiento corporal, pero con continuo movimiento opercular; III: igual que en estado II pero con cese de movimiento opercular) (García-Gómez *et al.* 2002) facilitado por el uso de un cronómetro digital marca Hanhart modelo CR001. La sustancia fue absorbida a través de las agallas, llegando gracias al torrente sanguíneo al sistema nervioso central (Ross & Ross 2008). El criterio de eficacia del anestésico fue dado por una pérdida total del equilibrio, sin una visible respuesta o reacción durante su extracción y manipulación (Munday & Wilson 1997).

Toma de medidas: peso y longitud

Seguidamente de anestesiarse a los animales, estos fueron extraídos de la pecera de anestesia, para ser pesados y medidos luego de la acción del eugenol (Ross & Ross 2008), evitando de esta manera el estrés de los animales. Se trató de controlar la toma de medidas en un corto periodo de tiempo (30 seg como máximo), para de esta manera no influir en el tiempo de recuperación de los animales dentro de la pecera de recuperación.

Recuperación de *X. helleri* posterior a la anestesia

La pecera de recuperación debe contener una alta aireación tal como lo menciona Hicks (1989). Se observaron las distintas fases de recuperación (I: cuerpo inmovilizado con inicio de movimiento opercular; II: movimientos operculares regulares e inicio de movimiento corporal; III: recuperación del equilibrio y comportamiento similar al de preanestesia), de acuerdo al trabajo realizado por García-Gómez *et al.* (2002). La eficacia del anestésico se evaluó basándonos en un tiempo de inducción igual o inferior a 3 min y de recuperación dentro de 5 min. a menos (Marking & Meyer 1985).

Análisis de datos

En todos los casos, la eficacia de las dosificaciones en machos y hembras se evaluó

a través de un análisis de varianza (ANDEVA). El análisis de datos se realizó utilizando el programa estadístico analítico Minitab, Versión 16.1.0 y SPSS, Versión 17,00.

RESULTADOS

Inducción del anestésico sobre *X. helleri*

El eugenol resultó efectivo como anestésico en *X. helleri* a concentraciones de 100, 125 y 150 mg·L⁻¹ en todos los animales. Los tiempos de inducción tomados en segundos (seg) variaron según el peso y la longitud de los peces anestesiados (Tabla 1, Figura 1). La dosis de 125 mg·L⁻¹ resultó con mayor efectividad en machos (Tabla 2) y 100 mg·L⁻¹ en hembras (Tabla 3). No se observó ningún tipo de respuesta adversa del tipo de las descritas en el empleo de otros anestésicos (como movimientos rápidos, contracciones nerviosas, convulsiones o saltos) durante la inducción a la anestesia.

Recuperación de *X. helleri* posterior a la anestesia

La recuperación de los animales fue total ante la anestesia a concentraciones de 100, 125 y 150 mg·L⁻¹. Los tiempos de recuperación variaron según el peso y la longitud de los peces anestesiados (Tabla 1, Fig. 2). La mayor efectividad en la recuperación fue a la dosis de 100 mg·L⁻¹ en machos y hembras (Tablas 2 y 3). No se observaron efectos adversos posteriores a la recuperación de los animales.

Ecuaciones lineales

Se determinaron ecuaciones lineales, utilizando diagramas de dispersión para 2 variables dependientes de la dosificación con mayor correlación (Tablas 2 y 3). Las ecuaciones lineales obtenidas fueron: $y = 58,98x + 103,01$; $R^2 = 0,27$ (Tiempo de inducción vs Peso, en machos a una dosis de 125 mg·L⁻¹) (Fig. 3), $y = 85x - 136,5$; $R^2 = 0,41$

(Tiempo de inducción vs Longitud, en machos a una dosis de 125 mg·L⁻¹) (Fig. 4), $y = 130,76x - 86,88$; $R^2 = 0,63$ (Tiempo de inducción vs Peso, en hembras a una dosis de 100 mg·L⁻¹) (Fig. 5), $y = 219,27x - 724,74$; $R^2 = 0,54$ (Tiempo de longitud vs Longitud, en hembras a una dosis de 100 mg·L⁻¹) (Fig. 6). Se hizo empleo de estas ecuaciones lineales en el laboratorio variando el peso y la longitud de animales de la misma especie dependientes del sexo y la dosis con mayor coeficiente de correlación (Fig. 3 al 6). Se obtuvieron resultados positivos durante el control del tiempo de inducción, permitiendo así una

segura manipulación posterior a la inducción del anestésico.

Costos

Según García-Gómez *et al.* (2002) los costos del aceite de clavo de olor (eugenol) es de 4 euros comparados con otros anestésicos utilizados rutinariamente cuyos costos estimados por cada 1000 litros de agua fueron en Euros de: 127 (MS222), 26 (Clorobutanol), 13 (Fenoxietanol) y 8 (Benzocaína). Para este estudio se gastó solamente un 1 Euro y medio por casi el mismo volumen de agua.

Tabla 1. Promedio de los resultados obtenidos en las distintas pruebas anestésicas con eugenol a una temperatura de 24°C en machos (n=30) y hembras (n=30) de *X. helleri*. Los valores de la tabla están expresados como Medias ± E.E. (Error estandar).

Dosis	Machos			Hembras			
	100 mg·L ⁻¹	125 mg·L ⁻¹	150 mg·L ⁻¹	100 mg·L ⁻¹	125 mg·L ⁻¹	150 mg·L ⁻¹	
Peso medio (g)	1,68 ± 0,09	1,68 ± 0,08	1,64 ± 0,05	2,8 ± 0,13	2,69 ± 0,09	2,85 ± 0,11	
Longitud (cm)	4,02 ± 0,06	3,98 ± 0,06	4,03 ± 0,04	4,58 ± 0,07	4,52 ± 0,06	4,58 ± 0,04	
Tiempo de inducción (segundos)	Fase I	44,9 ± 5,56	25,2 ± 3,5	15,1 ± 0,81	38 ± 2,12	27,2 ± 2,16	24,3 ± 2,77
	Fase II	40,5 ± 6,94	18,1 ± 3,11	22,5 ± 4,25	26,8 ± 4,59	36,5 ± 5,85	15,5 ± 1,69
	Fase III	165,8 ± 20,2	158,5 ± 10,2	144,7 ± 8,35	214,7 ± 19,2	194 ± 9,89	169,6 ± 12,4
	Total	251,2 ± 21,7	201,8 ± 8,57	182,3 ± 7,08	279,5 ± 20,7	257,7 ± 11	209,4 ± 11,4
Tiempo de recuperación (segundos)	Fase I	23,4 ± 6,54	13,2 ± 1,5	12,3 ± 0,1	20,8 ± 2,03	11,7 ± 0,72	7,4 ± 0,48
	Fase II	151,3 ± 22,4	124,6 ± 12,7	172,6 ± 19,2	224,9 ± 22,3	209,3 ± 17,2	173,2 ± 4,43
	Fase III	86,4 ± 11,5	66,7 ± 8,89	70,2 ± 9,21	144,1 ± 34,6	92,5 ± 11,2	57,7 ± 6,69
	Total	261,1 ± 18,8	204,5 ± 13,9	255,1 ± 21,1	389,8 ± 30,6	313,5 ± 14,8	238,3 ± 9,04

Tabla 2. Coeficiente de Correlación de Pearson de los resultados obtenidos en las distintas pruebas anestésicas con eugenol con machos de *X. helleri*.

	Coeficiente de correlación (machos)					
	Peso vs Tiempo de inducción total			Longitud vs Tiempo de inducción total		
Dosis (mg·L ⁻¹)	100	125	150	100	125	150
Correlación de Pearson	0,27	0,52	0,53	0,39	0,65	0,34
Significancia	0,45	0,12	0,12	0,27	0,05	0,34
	Peso vs Tiempo de recuperación total			Longitud vs Tiempo de recuperación total		
	Dosis (mg·L ⁻¹)	100	125	150	100	125
Correlación de Pearson	-0,28	-0,25	0,12	-0,28	-0,19	0,19
Significancia	0,43	0,49	0,75	0,43	0,6	0,61

Tabla 3. Coeficiente de Correlación de Pearson de los resultados obtenidos en las distintas pruebas anestésicas con eugenol con hembras de *X. helleri*.

	Coeficiente de correlación (hembras)					
	Peso vs Tiempo de inducción total			Longitud vs Tiempo de inducción total		
Dosis (mg·L ⁻¹)	100	125	150	100	125	150
Correlación de Pearson	0,8	0,41	-0,14	0,74	0,33	-0,24
Significancia	0,01	0,24	0,7	0,2	0,35	0,5
	Peso vs Tiempo de recuperación total			Longitud vs Tiempo de recuperación total		
	Dosis (mg·L ⁻¹)	100	125	150	100	125
Correlación de Pearson	-0,24	-0,13	0,15	-0,32	-0,15	0,20
Significancia	0,5	0,72	0,68	0,38	0,68	0,57

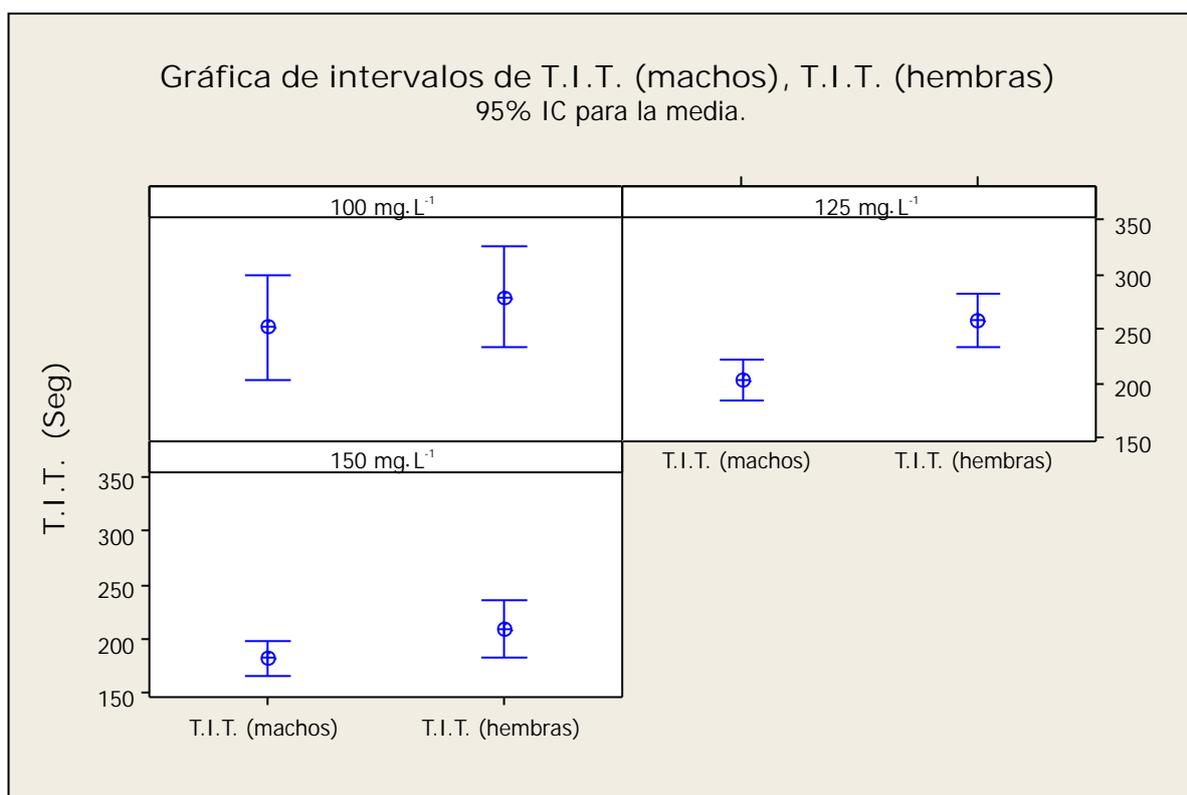


Figura 1. Tiempo total requerido para lograr la inducción total (T.I.T.) a la anestesia en machos y hembras de *X. helleri*. Los círculos pequeños representan la media con un 95% de Intervalo de Confianza (IC).

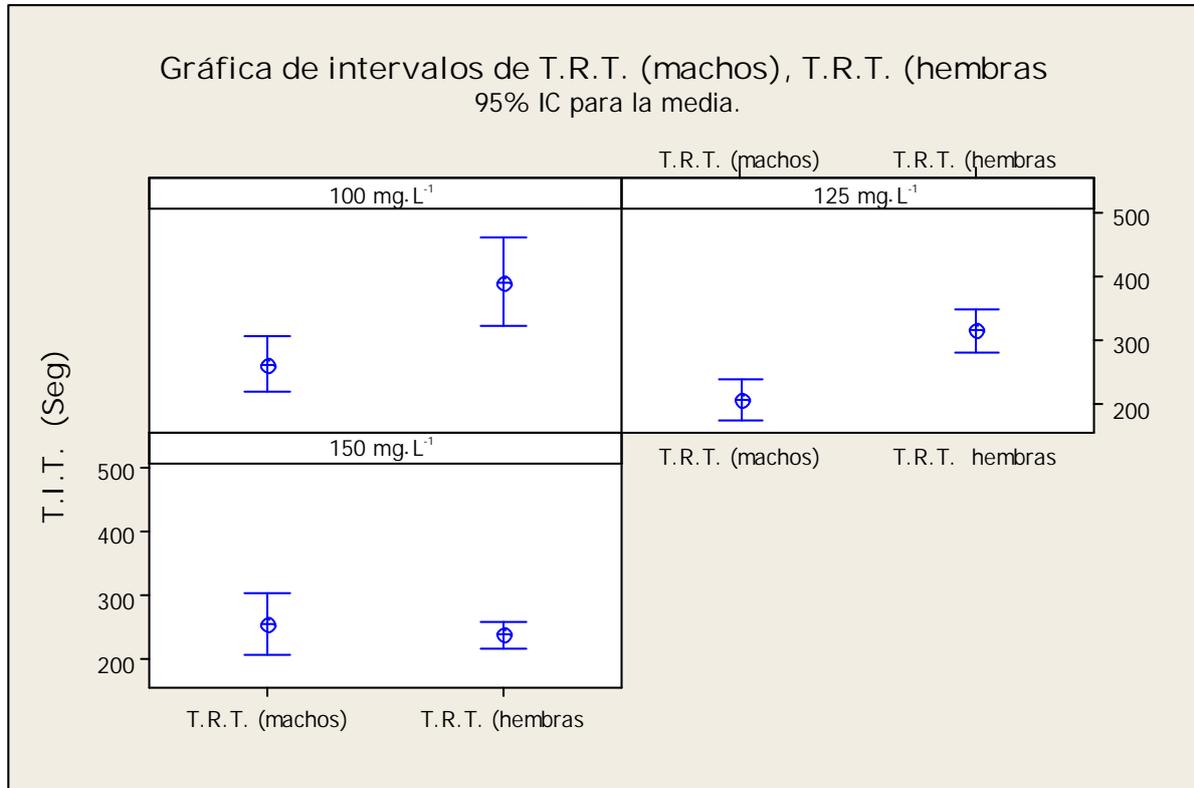


Figura 2. Tiempo total requerido para lograr la recuperación total (T.R.T.) a la anestesia en machos y hembras de *X. helleri*. Los círculos pequeños representan la media con un 95% de Intervalo de Confianza.

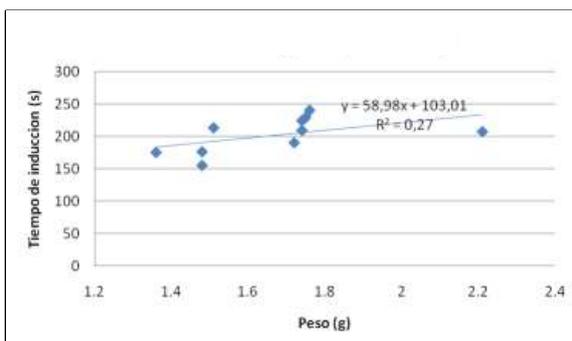


Figura 3. Determinación de una ecuación lineal entre peso vs tiempo de inducción a una dosis de $125 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ en machos de *X. helleri* según la dosis. Se empleó el mayor coeficiente de correlación entre estas 2 variables, $n=10$.

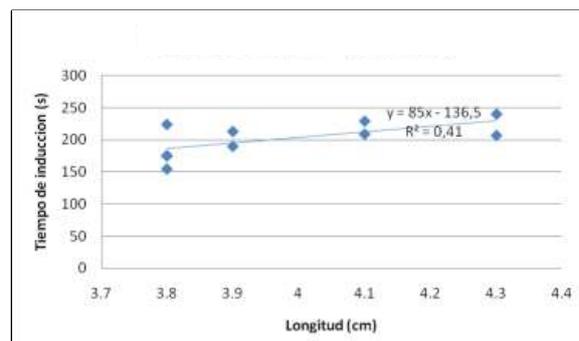


Figura 4. Determinación de una ecuación lineal entre longitud vs tiempo de inducción a una dosis de $125 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ en machos de *X. helleri*. Se empleó el mayor coeficiente de correlación entre estas 2 variables, $n=10$.

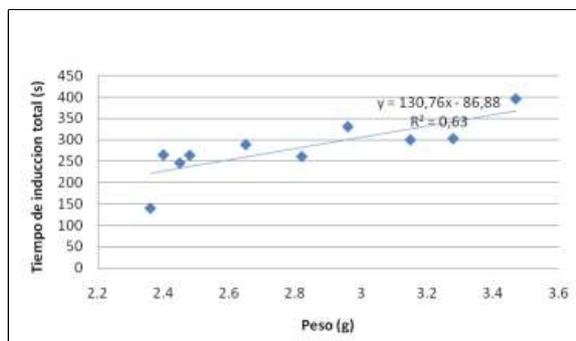


Figura 5. Determinación de una ecuación lineal entre peso vs tiempo de inducción a una dosis de $125 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ en hembras de *X. helleri*. Se empleó el mayor coeficiente de correlación entre estas 2 variables, $n=10$.

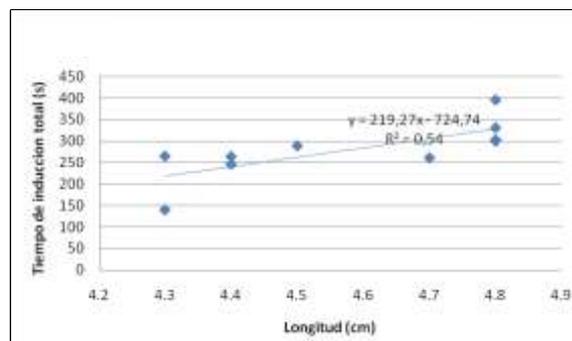


Figura 6. Determinación de una ecuación lineal entre longitud vs tiempo de inducción a una dosis de $125 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ en hembras de *X. helleri*. Se empleó el mayor coeficiente de correlación entre estas 2 variables, $n=10$.

DISCUSIÓN

El eugenol resultó efectivo como anestésico a una concentración de 100, 125 y $150 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ en todos los individuos, siendo $125 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ la dosis óptima en machos y $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ la dosis óptima en hembras (Tablas 2 y 3). El eugenol reúne por lo menos seis de los ocho criterios de un anestésico ideal tales como una duración razonable de la exposición, producir anestesia en alrededor de 3 min o menos, permitir la recuperación dentro de los 5 min o menos, no causar toxicidad para los peces en los niveles de tratamiento, no presentar problemas de seguridad de los mamíferos, y dejar bajos residuos sobre el tejido después de la retirada (Marking & Meyer 1985), siendo de esta manera un anestésico eficaz en *X. helleri*. Los tiempos de recuperación en machos fueron más cortos que en hembras porbablemente a un efecto fisiológico asociado al peso y sexo del animal. Sin embargo, se encuentran en el tiempo requerido de cinco min. A pesar de las variaciones se sugiere que el eugenol produce un nivel aceptable de tiempo de recuperación en *X. helleri*.

El eugenol es un producto mucho más barato que otros anestésicos comunes. Por ejemplo, treinta veces más barato que el anestésico MS222 y tan efectivo como él, y en dosis muy bajas (Munday & Wilson 1997, García-Gómez *et al.* 2002, Grush *et al.* 2004).

Teniendo en cuenta el costo-beneficio demostrado previamente, el eugenol parece ser una alternativa viable para la anestesia de peces en acuicultura. La principal ventaja del aceite de clavo de olor es su bajo costo y la seguridad que este brinda en relación con peces y seres humanos.

Se recomienda dosis de $125 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ para machos y $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ para hembras, para obtener la Fase de inducción total a la anestesia en *X. helleri* a los 4-5 min.

Con la administración de cualquier consideración anestésica, se debe analizar cualquier efecto acumulativo o fisiológico específico posterior a la inducción a la anestesia en *X. helleri* (Grush *et al.* 2004, Ross & Ross 2008), siendo éste un estudio importante a futuro.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a la empresa A. Tarrillo Barba S.A. por las facilidades brindadas en la adquisición del eugenol, cuya tienda se encuentra ubicada en la Av. Emancipación 282 - 2do piso, Cercado de Lima, Lima - Perú.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Axelrod, A. & Wischnath, L. 1991. *Swordtails and platies*. New Jersey, USA: TFH Publications.
- Brousse, J. 1974. *L'anesthésie des poissons*. Thèse de doctorat vétérinaire, Toulouse, 40: 55.
- Durville, P. & Collet, A. 2001. Clove oil used as an anaesthetic with juvenile tropical marine fish. SPC Live Reef Fish Information Bulletin, 9: 17-19.
- Endo, T.; Ogishima, K.; Tanaka, H. & Ohshima, S. 1972. Studies on the anaesthetic effect of eugenol in some fresh water fishes. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries, 38: 761-767.
- European Medicines Agency. 2007. *Guideline on repeated dose toxicity*. London, 21 February 2008. Extraído el 30 de Noviembre del 2010 desde: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500003103.pdf
- García-Gómez, A.; De la Gándara, F. & Raja, T. 2002. Utilización del aceite de clavo, *Syzygium aromaticum* L. (Merr. & Perry), como anestésico eficaz y económico para labores rutinarias de manipulación de peces marinos cultivados. Boletín Instituto Español de Oceanografía, 18: 21-23.
- Grush, J.; Noakes, D. & Moccia, R. 2004. The efficacy of clove oil as an anesthetic for the Zebrafish, *Danio rerio* (Hamilton). Zebrafish, 1: 46-53.
- Hicks, B. 1989. Anaesthetics: sweet dreams for fragile fish. Canadian Aquaculture, 89: 29-31.
- Jirovetz, L.; Buchbauer, G.; Stoilova, I.; Stoyanova, A.; Krastanov, A. & Schmidt, E. 2006. Chemical composition and antioxidant properties of clove leaf essential oil. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 54, 6303-6307.
- Kun, S.; Kwon, S.; Kim, H.; Chang, H. & Kang, S. 1998. Constituents from *Syzygium aromaticum* Merr. et Perry. Natural Products Sciences, 4: 263-267.
- Marking, L. & Meyer, F. 1985. Are better anesthetics needed in fisheries?. Fisheries, 10: 2-5.
- McGovern-Hopkins, K.; Tamaru, C.; Takeshita, G. & Yamamoto, M. 2003. *Procedural guide for the artificial insemination of the lyretail swordtail, Xiphophorus helleri*. Center for Tropical and Subtropical Aquaculture, 149.
- Munday, P. & Wilson, S. 1997. Comparative efficacy of clove oil and other chemicals in anaesthetization of *Pomacentrus amboinensis*, a coral reef fish. Journal of Fish Biology, 51: 931-938.
- OIE. 2010. *Código Sanitario para los Animales Terrestres. Utilización de animales en la investigación y educación*. Cap. 7.8. p. 1-13. Extraído el 30 de Noviembre del 2010 desde: http://www.oie.int/esp/normes/MCode/es_chapitre_1.7.8.pdf
- Ross, L. & Ross, B. 2008. *Anaesthetic and sedative techniques for aquatic animals*. (3rd ed.). Oxford, UK: Blackwell Publishing Ltd.
- Soto, C. & Burhanuddin 1995. Clove oil as a fish anaesthetic for measuring length and weight of rabbitfish (*Siganus lineatus*). Aquaculture, 136: 149-152.
- Tamaru, C.; Cole, B.; Bailey, R.; Brown, C. & Ako, H. 2001. *A Manual for Commercial Production of the Swordtail*,

Xiphophorus helleri. Center for Tropical and Subtropical Aquaculture, 128.

Taylor, P. & Roberts, S. 1999. Clove oil: an alternative anesthetic for aquaculture. North American Journal of Aquaculture, 61: 150-155

Fecha de recepción: 25 de noviembre del 2010.
Fecha de aprobación: 07 de diciembre del 2010.