

Aceite de Clavo (Eugenol®) como Anestésico en la Especie Panaque Cochliodon-Steindachner, 1879 (Cucha de Ojos Azules)¹

Carlos Arturo David Ruales², Manuel Oswaldo Guerra Jiménez³, Juan David Cano Gil⁴, Eliana Marcela Betancur González⁵

Resumen

Introducción: la cucha de ojos azules (*Panaque cochliodon*) es una especie endémica de la cuenca del Cauca y el Magdalena. Sin embargo, no se tiene mucha información sobre esta especie, incluida la ausencia de un protocolo de sedación adecuado para el trabajo en cautiverio con esta especie. **Objetivo:** estandarizar un protocolo de sedación del *P. cochliodon*. **Materiales y métodos:** se evaluaron diferentes concentraciones del sedante Eugenol que iban desde 20 a 40 mg/L; se adoptaron 4 tipos de sedación y 5 tipos de recuperación, encontrando así los grados de sedación adecuados para los diferentes procedimientos de manejo en confinamiento que se realizaron con esta especie. **Resultados:** todos los ejemplares alcanzaron la sedación

tipo 4 y la recuperación tipo 5 sin mortalidad. Significativamente la concentración a la cual los ejemplares demoraron más tiempo en alcanzar la sedación tipo 4 y recuperación tipo 5 fue la de 20 mg/L, las demás concentraciones no presentaron diferencias entre sí, pero indican una tendencia inversa con respecto a la concentración y el tiempo. **Conclusiones:** todas las concentraciones evaluadas son seguras para el manejo de *P. cochliodon* de 314±11,6 gr, no se presentó mortalidad; las concentraciones de 30 a 35 mg/L, ofrecen 2,6 minutos de trabajo, sin efectos deletéreos aparentes sobre la especie.

Palabras clave: *Panaque cochliodon*, sedación, recuperación, dosificación, aceite de clavo.

1 Artículo de investigación derivado y financiado del Convenio 267 de 2021 suscrito entre la Autoridad Nacional de Acuicultura y Pesca (AUNAP), la Corporación Universitaria Lasallista y el Centro Acuícola y Piscícola (CAP) Santa Cruz, titulado: Adaptación al cautiverio y estandarización de una técnica no invasiva (ecografía) para la determinación del género y la evaluación de la madurez gonadal de la especie *Panaque cochliodon* (cucha de ojos azules) del río Magdalena. Grupo de investigación GIPDTA de Unilasallista.

2 Director del Convenio 267 de 2021. PhD, MSc, Esp. Biol. Docente del programa de Zootecnia de la Unilasallista.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8834-2755>

3 Estudiante del programa de Zootecnia de la Corporación Universitaria Lasallista. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9196-4053>

4 Zootecnista, investigador en el Convenio 267 de 2021. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4574-7509>

5 Zootecnista, MSc en Gestión de la Calidad de los Alimentos, Coordinadora Laboratorios de Acuicultura, Procesos y Alimentos de Unilasallista.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5147-7130>

Autor para Correspondencia: Carlos Arturo David Ruales, correo: cdavid@unilasallista.edu.co

Recibido: 20/09/2021 Aceptado: 31/05/2022

*Los autores declaran que no tienen conflicto de interés

Clove Oil (Eugenol®) as an Anesthetic in the Species *Panaque Cochliodon-Steindachner, 1879* (Blue-Eyed Pleco)

Abstract

Introduction: the blue-eyed pleco (*Panaque cochliodon*) is a species endemic to the Cauca and Magdalena basin. However, not much information is available on this species, including the absence of an adequate sedation protocol for captive work with this species. **Objective:** this research standardizes a sedation protocol for *P. cochliodon*. **Materials and methods:** for this purpose, different dosages and concentrations of the sedative Eugenol ranging from 20 to 40 mg/L were evaluated and 4 types of sedation

and 5 types of recovery were adopted, thus finding the appropriate degrees of sedation for the different confinement management procedures that were performed with this species. **Results:** all specimens reached type 4 sedation and type 5 recovery without mortality. Significantly, the concentration at which the specimens took the longest time to achieve type 4 sedation and type 5 recovery was 20 mg / L, the other concentrations did not show differences between them, but indicate an inverse trend with respect to the concentration and experimental time. **Conclusions:** all the concentrations evaluated are safe for the management of *P. cochliodon* of 314 ± 11.6 gr, there was no mortality; concentrations of 30 to 35 mg / L, offer 2.6 minutes of work, without apparent deleterious effects on the species.

Key words: *Panaque cochliodon*, sedation, recovery, dosages, clove oil.

Óleo de Cravo (Eugenol®) como Anestésico na Espécie *Panaque Cochliodon-Steindachner, 1879* (Cascudo De Olhos Azuis)

Resumo

Introdução: o cascudo de olhos azuis (*Panaque cochliodon*) é uma espécie endêmica da bacia do Cauca e Magdalena. Contudo, não há muita informação disponível sobre esta espécie, incluindo a ausência de um protocolo de sedação adequado para o trabalho em cativeiro com esta espécie. **Objetivo:** Esta investigação padronizou um protocolo de sedação para o *P. cochliodon*. **Materiais e métodos:** para tanto, foram avaliadas diferentes dosagens e concentrações do sedativo Eugenol variando de 20 a 40 mg/l e adotados 4 tipos de sedação e 5 tipos de recuperação, encontrando-se

assim os graus de sedação adequados para os diferentes confinamentos procedimentos de manejo que foram realizados com esta espécie. **Resultados:** todos os espécimes alcançaram sedação tipo 4 e recuperação tipo 5 sem mortalidade. Significativamente, a concentração na qual as amostras demoraram mais tempo para atingir a sedação do tipo 4 e recuperação do tipo 5 foi de 20 mg/l, as demais concentrações não apresentaram diferenças entre si, mas indicam uma tendência inversa em relação à concentração e ao tempo. **Conclusões:** todas as concentrações avaliadas são seguras para o manejo de *P. cochliodon* de $314 \pm 11,6$ gr, não houve mortalidade; concentrações de 30 a 35 mg/l, oferecem 2,6 minutos de trabalho, sem efeitos deletérios aparentes para a espécie.

Palavras-chave: cascudo, sedação, recuperação, dosagens, óleo de cravo.

Introducción

La mayoría de las prácticas que tienen que ver con la adaptación al confinamiento de especies ícticas silvestres, además de las cotidianas en un sistema acuícola que incluyen transporte, biometrías, toma de muestras, diagnóstico, marcación, revisión del estado general y biopsia ovárica, entre otras, pueden resultar invasivas (David-Ruales, 2015). Como resultado de la manipulación se generan altos niveles de estrés que pueden provocar inmunosupresión, lesiones físicas o incluso la muerte (Coyle, Durborow & Tidwell, 2004). Un buen manejo implica implementar diferentes técnicas que eviten o disminuyan las situaciones que afectan el bienestar de las especies (David-Ruales, 2014); entre ellas, la más utilizada actualmente se vale de anestésicos, los cuales provocan la pérdida de movilidad, equilibrio, conciencia, reflejos, entre otras características que facilitan el manejo del animal. En la actualidad se encuentran dos tipos de anestésicos: naturales y sintéticos. Los primeros son extraídos del medio natural, como semillas, tallos, hojas, raíces, entre otros, lo que genera menos residuos y un bajo costo. Por otro lado, los sintéticos, como por ejemplo el metanosulfonato de triclaína (MS-222), se caracterizan por su alta generación de residuos, elevados costos y efectos deletéreos (pérdida de moco, irritación bronquial y daños en la córnea) (Iwama, G.K & Ackerman, 1994). Aunque los anestésicos sintéticos se caracterizan por ser más efectivos que los naturales en algunos casos, se predice que estos últimos se explorarán y se utilizarán más en el futuro (Purbosari, Warsiki, Syamsu & Santoso, 2019). Uno de los anestésicos naturales más reconocidos y utilizados es el Eugenol, también conocido como aceite de clavo. Este anestésico es destilado de flores, tallos y hojas de la especie *Syzygium aromaticum* (*Eugenia aromaticum* o *Eugenia caryophyllata*) (Purbosari et al., 2019), sumado a excipientes y otros compuestos que determinan sus

características organolépticas (Coyle et al., 2004). El Eugenol presenta varios usos, que van desde analgésico y anestésico en odontología (Curtis, 1990); con perfil antioxidante y potencial antiinflamatorio (Barboza, da Silva Maia Bezerra Filho, Silva, Medeiros & de Sousa, 2018); además de propiedades antimicrobianas (Marchese et al., 2017); antifúngicas (Hassan et al., 2018) y como sustancia que puede prevenir algunas enfermedades crónicas (Fujisawa & Murakami, 2016). En peces el Eugenol ha sido utilizado en varias especies (Diemer et al., 2012; Elyara et al., 2009; Keene, Noakes & Moccia, 1998; Oliveira, Pereira-Da-Silva & Viegas, 2019; Simões, Gomide, Almeida-Val, Val & Gomes, 2012) y se reporta como una sustancia efectiva para lograr la anestesia, sin aparentes riesgos (Inoue, Afonso, Iwana & Moraes, 2005) e incluso sin efectos adversos sobre el comportamiento (da Silva et al., 2021); tomando como base la forma del pez, estos reportes se hacen sobre especies fusiformes principalmente pelágicas. Para la especie en mención, el *Panaque cochliodon*, también conocido como cucha de ojos azules, no existen reportes del uso de anestésicos. Esta especie endémica de Colombia, clasificada como vulnerable (A2d) (Maldonado-Ocampo, Vari & Usma, 2008), se encuentra distribuida en las cuentas del Magdalena, Cauca y Sinú; el estado de su población es desconocido; no se tiene información sobre su reproducción, presenta baja captura y sus poblaciones han declinado en los últimos años probablemente debido a las perturbaciones sobre el hábitat (sobrepesca, minería ilegal, etc.), por lo que se recomienda la protección de su hábitat (Maldonado-Ocampo et al., 2005). Dentro de sus características anatómicas están las de poseer más de cinco dientes dentarios y premaxilares; las cúspides dentarias y premaxilares son unicúspides, cortas y tienen forma de cucharón o cuchara; a diferencia de los otros miembros del subgénero *Scobinancistrus* que tienen entre tres o cuatro dientes dentarios y premaxilares, con cúspides dentarios bicúspides de formas largas y espatuladas; además se diferencia de

todos los miembros del subgénero *Panaqolus* por tener ojos azules en comparación de los colores negro, gris o marrón y por alcanzar un tamaño adulto máximo mayor de al menos 283 mm de longitud estándar, comparado con los 150 mm (Lujan, Hidalgo & Stewart, 2010). Se considera uno de los ejemplares más hermosos del país debido a su contraste oscuro de su cuerpo con el azul de sus ojos, presenta la cabeza con el hocico redondeado y el cuerpo cubierto totalmente por placas, aleta dorsal con siete radios ramificados (Maldonado-Ocampo et al., 2008); puede alcanzar una longitud total de 40 cm, por lo general se encuentra en el cauce principal de los ríos y asociada a zonas de remanso y palizadas. El objetivo del presente trabajo fue evaluar diferentes concentraciones de Eugenol, que permitieron el manejo con seguridad y asegurar para la especie una escala de sedación y de recuperación que sirva de modelo para peces con características asociadas a este género.

Materiales y métodos

Bienestar animal: el proyecto contó con el aval del Comité de Ética y Experimentación con animales de la Corporación Universitaria Lasallista, bajo visto bueno con documento radicado con No. 5-001-20201001462, del día 01 de octubre de 2020.

Localización: esta actividad se ejecutó en el laboratorio de acuicultura de la Corporación Universitaria Lasallista (CUL), ubicado en el municipio de Caldas, a 1750 m.s.n.m., con una temperatura promedio de 18.5° C y una humedad relativa promedio del 82.2 %.

Manejo de las unidades experimentales: se montó un sistema estático compuesto por seis acuarios (tres para sedación y tres para recuperación) cada uno de 20 litros de volumen total, conectados a un sistema de aireación compuesto por una bomba de diafragma de

¼ de HP que distribuía la aireación a través de piedras difusoras. Los acuarios fueron provistos con la misma agua del laboratorio, la cual mantuvo durante el periodo experimental las siguientes condiciones: Oxígeno disuelto (OD) (7,32±0,69 mg/l); porcentaje de saturación (% SAT) (84,8±5,4); temperatura (T°C) (26,1±0,65° C); dureza (Dz) (76,7±3,4 mg/l CaCO₃⁻); alcalinidad (Alk) (93,5±3,2 mg/l CaCO₃⁻); pH (6,87±0,14) y amonio no ionizado (NH₃⁺) (0 mg/l); las cuales corresponden al confort de la especie. Se dispuso un ejemplar por acuario, para un total de tres ejemplares, elegidos con base a su estado general y condición corporal; el peso promedio fue de 314±11,6 gr. Cada ejemplar fue sometido a cinco concentraciones crecientes de Eugenol (entre 20 a 40 mg/l), las cuales fueron escogidas y modificadas con base en los trabajos reportados para las especies *Oncorhynchus mykiss* (Keene et al., 1998); *Cyprinus carpio* (Velisek, Svobodova, Piackova, Groch & Nepejchalova, 2005); *Ictalurus punctatus* (Small, 2003); *Rhamdia voulezi* (Diemer et al., 2012) y por observaciones previas en la estandarización del presente protocolo, que evitaron riesgo de muerte en los ejemplares. Para preparar estas concentraciones, se realizó una solución madre de 15 ml de Eugenol y 1000 ml de alcohol al 96 %, la cantidad de la solución madre a utilizar se hizo con base en un volumen de trabajo experimental de 16 litros. La tabla N° 1 nos muestra las dosis, las concentraciones y la cantidad de solución madre que se usó por cada tratamiento.

Tabla N° 1. Concentraciones de la solución de Eugenol y el volumen final para lograr la concentración elegida en la unidad experimental.

Dosis	Concentraciones (mg/l)	Cantidad de solución madre (ml)
1	20	20,1
2	25	25,12
3	30	30,15
4	35	35,17
5	40	40,2

Fuente: elaborada por los autores

Tipos de sedación y recuperación: Las tablas N° 2 y N° 3, que representan las escalas de sedación y recuperación respectivamente, son el resultado de la modificación de lo propuesto por Keene y colaboradores (Keene et al., 1998) y por Diemer y colaboradores (Diemer et al., 2012), toda vez que el comportamiento y

actividad registrada en *P. cochlodon* para estas etapas difiere de los modelos presentados; para ello, se consideraron 4 estados en sedación, con el último (4), representando la ausencia total de reacción a estímulos y 5 etapas en recuperación, con 5 como normalización del movimiento opercular.

Tabla N° 2. Tipos de sedación y sus características para la especie *Panaque cochlodon*

Tipo	Etapas de sedación
1	Aumento del movimiento opercular
2	Pérdida parcial del equilibrio y dificultad de movimiento de nado
3	Pérdida total del equilibrio
4	Ausencia de reacción a estímulos

Fuente: adaptada de Keene et al., 1998.

Tabla N° 3. Tipos de recuperación para la especie *Panaque cochlodon*

Tipo	Etapas de recuperación
1	Reaparición de reacción a estímulos
2	Recuperación parcial del equilibrio y del movimiento de nado
3	Recuperación total del equilibrio
4	Recuperación conductual normal
5	Normalización del movimiento opercular

Fuente: adaptada de Keene et al., 1998.

Dada la forma corporal de los ejemplares de *P. cochliodon*, se debió considerar la estandarización de ciertos movimientos en el proceso de sedación y recuperación; como girar el ejemplar, halarlo de la aleta dorsal, entre otros, para dar cumplimiento a las etapas relacionadas. Los ejemplares se pescaron con nasas, se pesaron en balanza digital y se dispusieron de manera individual en cada acuario, se hicieron las observaciones y se registraron con cámara sumergible para poder comparar los tiempos registrados y las anotaciones del proceso; una vez alcanzada la etapa 4 en sedación, eran dispuestos en los acuarios de recuperación, hasta que alcanzaran la escala 5, tiempo después del cual los ejemplares fueron devueltos a su estanque, haciendo seguimiento por 48 horas, verificando comportamiento y su estado general. En cada réplica se determinó además los principales parámetros de calidad de agua al inicio y al final de los tiempos de sedación y recuperación (OD, % SAT, pH, T°, Alcalinidad, Dureza y Amonio total) por medio de sonda multiparamétrica (YSI-Professional plus) y un espectrofotómetro (YSI-Ecosense).

Diseño experimental: el montaje experimental implicó un diseño completamente aleatorizado, con cinco tratamientos y tres réplicas por tratamiento, que se hicieron en el tiempo. Todos los datos obtenidos fueron sometidos a las pruebas de normalidad y análisis de varianza unidireccional, con posterior estudio de regresión buscando establecer las curvas de los tiempos de inducción y de recuperación a la anestesia profunda en función de las diferentes concentraciones de Eugenol. Los tiempos medios de la inducción y de la recuperación a la anestesia profunda y demás escalas fueron comparados por análisis de varianza y comprobados por la prueba de Tukey, con un nivel de significancia del 95 %. Todas las pruebas se hicieron con el paquete estadístico Statgraphics Centurión (XVI)® con licencia para la Corporación Universitaria Lasallista.

Resultados

Se puede afirmar que todas las concentraciones usadas son seguras para ejemplares con pesos promedio entre $314 \pm 11,6$ gr; todos los especímenes alcanzaron el estado de sedación 4 y el estado de recuperación 5, sin registro de mortalidad o daño aparente. Se observó claramente que en la etapa 1 de sedación los movimientos operculares se intensifican significativamente cuando son comparados con un estado normal o de recuperación 5, pasando de $187,86 \pm 8,4$ a $137,6 \pm 9,7$ batidas por minuto. En la etapa 2, cada uno de los ejemplares presenta pérdida parcial del equilibrio, representada en la dificultad para volver a su eje de nado principal cuando era ligeramente volteada por giro manual y dificultad para escapar con nado rápido; el mayor tiempo en alcanzar este estado con $44 \pm 5,29$ segundos, se registró con la concentración de 20 mg/L y el menor tiempo con la concentración de 40 mg/L, con $23,33 \pm 1,53$ segundos. La pérdida total del equilibrio, confrontada con la manipulación de giro (etapa 3), se registró con un tiempo mayor en la concentración de 20 mg/L (80 ± 20 segundos) y con el menor tiempo en la concentración de 40 mg/L ($37,33 \pm 6,66$ segundos); por último, en la sedación total (estado 4), ningún ejemplar presentó respuestas a estímulos externos y los tiempos para alcanzarlo, presentaron la misma tendencia, es decir a menor concentración, más tiempo en llegar a esta etapa. La tabla N° 5 indica los tiempos promedio y su desviación estándar con respecto a la concentración y el tipo de sedación; los resultados del análisis de varianza muestran diferencias significativas en el tiempo a partir del tipo de sedación 2, cuando se compara la concentración de 20 mg/l con las demás concentraciones experimentales; para el Tipo 3 de sedación hubo diferencias significativas en la concentración inicial de 20 mg/L, al ser comparada con las concentraciones de 30, 35 y 40 mg/l.

Tabla N° 5. Tipos de sedación y tiempos en segundos, comparación por concentración de Eugenol. (n=60). Letras diferentes representan diferencias significativas (95%)

Concentración mg/l Eugenol	Tipos de Sedación										
	1	SD	2	SD	3	SD	4	SD			
20	10.33	1.53	44.00	5.29	a	80.00	20.00	a	106.67	20.82	a
25	10.33	1.53	24.67	2.52	b	51.00	14.42	ab	62.33	15.53	b
30	9.67	0.58	26.00	4.58	b	43.67	10.26	b	52.33	15.70	b
35	11.33	1.53	25.00	6.24	b	41.33	10.26	b	49.67	8.02	b
40	10.33	1.53	23.33	1.53	b	37.33	6.66	b	41.33	5.03	b

Fuente: elaborada por los autores

Se puede apreciar que el tiempo de sedación con relación a la concentración del Eugenol presenta una tendencia inversa, lo que indica que, a mayor dosis, menor tiempo en alcanzar el tipo de sedación 4.

En la observación de la recuperación de los ejemplares se evidenció que en la etapa 1 la reaparición de reacción a estímulos, caracterizada por presencia de actividad leve de movimientos en el ejemplar que responde a presiones leves sobre este, apareció de manera más tardía a 20 mg/L que a 40 mg/L, aunque no se presentaron diferencias significativas en ninguna de las concentraciones empleadas. En la etapa 2 se observó que a menor concentración de Eugenol mayor es el tiempo que tardan en recuperar parcialmente el equilibrio y eje de nado, siendo el menor tiempo $80,33 \pm 6,8$ y $132,3 \pm 45$ segundos el mayor tiempo, evidenciándose, gracias a giros manuales realizados sobre estos, la recuperación parcial de su capacidad de escape con nado medianamente rápido. La etapa 3, que corresponde a la recuperación total del equilibrio y se observa mediante manipulación de giro y evasión de objetos

externos, se alcanzó con mayor velocidad ($120 \pm 13,23$ segundos) en la concentración de 40 mg/L, siendo progresiva la demora de recuperación, alcanzado su mayor tiempo ($196,7 \pm 20,82$ segundos) cuando se expuso a la concentración de 20 mg/L. Sobre los resultados obtenidos de la observación de la etapa 4 se deduce que es inversamente proporcional la concentración con el tiempo de recuperación, es decir, cuando se expone a la especie a 20 mg/L tarda más en recuperar su conducta normal ($215 \pm 22,91$ segundos), mientras que cuando se expone a 40 mg/L tarda menos en recuperarla ($136,33 \pm 11,06$ segundos). Por último, respecto a la etapa 5 de recuperación, se logró identificar que a medida que iban recuperándose, iban disminuyendo las operculaciones por minuto, viéndose con mayor rapidez esta disminución cuando el ejemplar fue expuesto a las mayores concentraciones del sedante. La tabla N° 6 indica los tiempos de recuperación; se observa claramente que la concentración de 20 mg/l, a partir del tipo 3, hasta el tipo 5 de recuperación, fue donde los ejemplares significativamente se tardaron más tiempo en alcanzar su estado aparentemente normal.

Tabla N°6. Tipos de recuperación y tiempos en segundos, comparación por concentración de eugenol. (n=60). Letras diferentes representan diferencias significativas (95 %)

Concentración mg/l Eugenol	Tipos de Recuperación (segundos)												
	1	SD	2	SD	3	SD	4	SD	5	SD			
20	92.67	29.14	132.33	44.66	196.67	20.82	a	215.00	22.91	a	235	17.3	a
25	68.33	14.57	116.33	31.97	120	15.00	b	134.00	14.18	b	155.0	5.0	b
30	60.33	24.50	82,00	28.48	126.67	25.17	b	152.33	22.50	b	161.7	23.6	b
35	76.67	6.03	98.33	2.89	119	14.18	b	136.67	12.58	b	148.3	12.6	b
40	55.33	6.43	80.33	6.81	120	13.23	b	136.33	11.06	b	150.0	10.0	b

Fuente: elaborada por los autores

Para el caso de los tiempos de recuperación la relación es inversa, lo que indica que, a menor concentración, el tiempo es mayor para alcanzar el estado 5. Como lo muestra la figura N°1, para alcanzar los máximos estados en sedación y recuperación, en la especie *Panaque cochliodon* el modelo exponencial puede predecir con un 91,5 % de certeza el

tiempo en que los ejemplares de *Panaque* pueden alcanzar el estado 4 de sedación con una concentración dada. Para el caso de la recuperación, los resultados muestran que el mismo modelo de regresión potencial, puede explicar en un 70,8 % la predicción en cuanto al uso de otras concentraciones de Eugenol que se pueden trabajar en la especie.

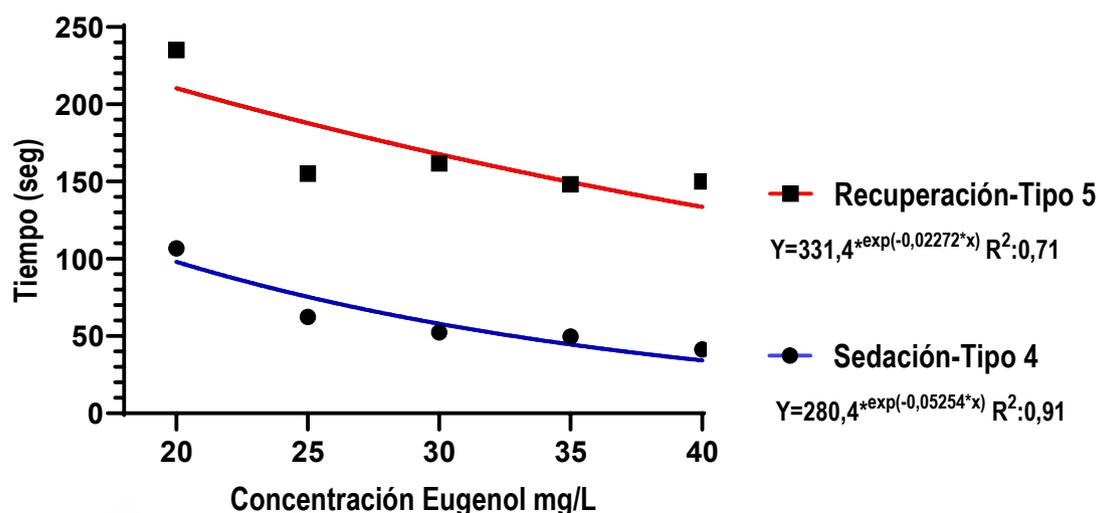


Figura N°1. Ecuaciones de regresión no lineal para el tipo de sedación 4 y de recuperación 5, usando diferentes concentraciones de eugenol en *Panaque cochliodon*

Fuente: elaborada por los autores

Discusión

La acuicultura involucra actividades que inherentemente provocan estrés para los peces, así, las biometrías, las revisiones del estado general, la condición de los peces de cultivo, el manejo alimenticio y reproductivo pueden incidir de manera negativa sobre el desempeño del pez y provocar enfermedades o incluso la muerte, afectando la rentabilidad del cultivo para el sector productivo y en las investigaciones llevando a resultados probablemente erróneos (Small, 2003). Así los anestésicos brindan un medio ideal para reducir los efectos deletéreos del manejo; debido a que aseguran la pérdida progresiva de equilibrio, movilidad, conciencia y acción de reflejo, asegurando la reducción del estrés causado por el procedimiento (Coyle et al., 2004). El uso de Eugenol o aceite de clavo, se ha popularizado debido a que se caracteriza por buena velocidad de acción, se regula fácilmente, es económico, de fácil acceso, seguro, con tiempos de recuperación cortos, genera pocos residuos y es eficiente en la acuicultura y en estudios acuáticos (Park et al., 2008).

Las concentraciones de aceite de clavo entre 20 y 40 mg/l fueron efectivas para inducir la sedación tipo 4 en ejemplares de *Panaque cochliodon* y se observó una tendencia que indica que a mayor concentración del anestésico, menor es el tiempo en alcanzar la máxima sedación. Este comportamiento también ha sido reportado en varias especies: en juveniles de la especie *Brycon cephalus* (Inoue-Aoki, dos Santos-Neto & Moraes, 2003); en la especie *Rhamdia vuolezi* (Diemer et al., 2012); en alevinos de *Astianax atiparanae* (Elyara et al., 2009); en adultos y juveniles de *Oreochromis niloticus* (Simões et al., 2010, 2012); en *Cyprinus carpio* (Velisek et al., 2005); entre otros; salvo que las concentraciones usadas cambian. Es así que la especie *Brycon cephalus* (Inoue-Aoki et al., 2003) alcanza la

sedación en un tiempo de $216,7 \pm 37,3$ segundos a 20 mg/l, mayor que el valor presentado en el presente estudio ($106,67 \pm 20,82$ segundos) y la recuperación en la misma concentración se alcanzó a los $56 \pm 10,7$ segundos, mucho menor que la reportada para *P. cochliodon* ($235 \pm 17,3$ segundos); para la concentración de 40 mg/l el tiempo en alcanzar la sedación fue de $77,1 \pm 9,7$ segundos, un poco mayor que en el presente estudio ($41,3 \pm 5,03$ segundos); y en recuperarse $58,1 \pm 11,4$ segundos, valor 2,6 veces más bajo que para el presente estudio. Estas diferencias pueden estar relacionadas con la especie y/o al estado fisiológico de los ejemplares (Baldisserotto, 2013). Al respecto en la especie *Rhamdia vuolezi* (Diemer et al., 2012), se reporta que a mayor peso el tiempo de recuperación fue mayor. Por otro lado, en juveniles de la especie *Colossoma macropomum* (Vidal, Alabinati, Santos-Neto, Deus & Albinati, 2007), no se reportan diferencias para alcanzar la sedación y la recuperación en diferentes grupos de pesos, pero hace referencia a las diferencias que se pueden presentar en estas variables cuando se comparan entre diferentes especies.

En el presente estudio se hizo una modificación en las características que se presentaron con base en cada nivel de sedación y de recuperación, toda vez que la estructura corporal de los ejemplares estudiados no es fusiforme, de esta manera, en el presente estudio la primera etapa en la sedación se caracteriza por el incremento de los movimientos operculares; al contrario de lo reportado para la especie *Oncorhynchus mykiss* donde se observó un comportamiento totalmente contrario (Keene, Noakes, Moccia & Soto, 1998). Para la especie *Pseudoplatystoma corruscans* la reacción de fuga se alcanzó a los 126 segundos a una concentración de 50 mg/l, que corresponde a la etapa 5 de recuperación, que en el presente estudio se alcanzó a los 150 segundos.

A diferencia del *Panaque cochliodon* que sí alcanzó las cuatro etapas de sedación independiente de la concentración de Eugenol utilizada, en estudios realizados en juveniles de pargo manchado (*Lutjanus guttatus*) se evidenció que dosis de 25 mg/l resultaron insuficientes para que los peces alcanzaran la etapa 3 de sedación (que, para ese estudio, correspondía a la pérdida de movimiento corporal y del opérculo), provocando solo una sedación parcial (Chacón-Guzmán, Carvajal-Oses, Pauletto & Herrera-Ulloa, 2019). Caso similar se dio en estudios sobre peces escalares (*Pterophyllum scalare*), donde se observó que bajas dosis como de 20 mg/l no generaba un estado de sedación suficiente como para la realización de procedimientos complejos (cirugías o procedimientos invasivos), por lo que se recomendaba dicha dosis para procedimientos poco complejos (morfometría, pesaje, marcación, transporte, clasificación, etc.) (Millán-Ocampo et al., 2012).

Álvarez-Perdomo, Castillo-Pastuzan, Gallardo-Aza, Novoa-Serna y Eslava-Mocha (2016) observaron en un estudio sobre juveniles de pavón (*Cichla orinocensis*) que a medida que era menor la dosis empleada, mayor era el tiempo de inducción (teniendo una duración de $133\pm 63,21$ segundos para el tratamiento con 20mg/l), y que, a mayor dosis empleada, menos era el tiempo de inducción (teniendo una duración de $46\pm 17,51$ segundos para el tratamiento con 50 mg/l). Al contrastar esto con los resultados obtenidos en la presente investigación, puede observarse que la cucha de ojos azules requiere de menos tiempo de inmersión para alcanzar las cuatro etapas de sedación, independiente de la dosis de Eugenol; sin embargo, puede evidenciarse que es significativamente mayor la diferencia de tiempo de inducción cuando la concentración es de 20 mg/l (el pavón requiere $133\pm 63,21$ segundos, mientras que la cucha de ojos azules requiere $106\pm 20,81$ segundos) que cuando es de 40 mg/l (el pavón requiere aproximadamente

50 segundos, mientras que la cucha de ojos azules requiere $41,33\pm 5,03$ segundos).

Por otro lado, en estudios realizados sobre el bagre plateado (*Rhamdia voulezi*) se utilizaron concentraciones que iban desde 50 mg/L hasta 125 mg/l sin registrar mortalidad pasado el tiempo de recuperación (Diemer, et al., 2012); sin embargo, en las pruebas con las cuchas de ojos azules se observó gran rapidez de sedación total del ejemplar, por lo que, para mayor seguridad y disminución de riesgo de muerte, se consideró apropiado utilizar concentraciones más bajas, las cuales iban desde 20 mg/l hasta 40 mg/l. Cabe destacar que este es el primer estudio realizado sobre etapas de sedación y recuperación usando el aceite de clavo en la especie *Panaque cochliodon*.

Conclusiones

Independientemente de la concentración de Eugenol utilizada, todos los ejemplares alcanzaron el tipo de sedación 4 (ausencia de reacción a estímulos), además de que todos se recuperaron. No se presentaron mortalidades después de terminado el experimento, lo que indica que estas concentraciones se pueden usar con seguridad. Para fines prácticos a la hora de hacer manejo de la especie como, por ejemplo: biometrías y exámenes ecográficos, las concentraciones de 30 mg/L, a 35 mg/l, permite una sedación rápida (0,85 minutos) y un tiempo de recuperación intermedio cercano a los 3 minutos (2,6 minutos) que da un margen de tiempo de trabajo adecuado para la especie.

Agradecimientos

A la Autoridad Nacional de Acuicultura y Pesca (AUNAP), por haber financiado el convenio que dio origen a esta investigación; en especial a la Oficina de Generación del

Conocimiento y la Información (OGCI-AUNAP) en cabeza de la Doctora María Rosa Angarita Peñaranda y su equipo de trabajo asociado, los

profesionales Diana Marcela Serrano Saldaña y Larry Javier Robles Cubillos por sus valiosos aportes técnicos y administrativos.

Referencias

- Baldisserotto, B. (2013). Respiração e Circulação. In B. Baldisserotto (Ed.), *Fisiologia de Peixes* (3rd ed., pp. 55–78). EditoraUFMS.
- Barboza, J. N., da Silva Maia Bezerra Filho, C., Silva, R. O., Medeiros, J., & de Sousa, D. P. (2018). An Overview on the Anti-inflammatory Potential and Antioxidant Profile of Eugenol. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 3957262, 1–9. <https://doi.org/https://doi.org/10.1155/2018/3957262>
- Coyle, S., Durborow, R. M., & Tidwell, J. . (2004). Anesthetics in Aquaculture. *SRAC Publication, 3900*, 1–6. <http://fisheries.tamu.edu/files/2013/09/SRAC-Publication-No.-3900-Anesthetics-in-Aquaculture.pdf>
- Curtis, E. K. (1990). In pursuit of palliation: oil of cloves in the art of dentistry. *Bulletin of the History of Dentistry*, 38, 9–14.
- Da Silva, D. R., Arvigo, A. L., Giaquinto, P. C., Delicio, H. C., Barcellos, L. J. G., & Barreto, R. E. (2021). Effects of clove oil on behavioral reactivity and motivation in Nile tilapia. *Aquaculture*, 532. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.736045>
- David-Ruales, C. A. (2014). Bienestar en peces y aspectos reglamentarios en Colombia para la explotación de especies ícticas con fines experimentales y comerciales. *Revista Lasallista de Investigación*, 11(1), 169–180. <http://hdl.handle.net/10567/1181>
- David-Ruales, C. A. (2015). Estrategias para la adaptación al confinamiento de especies ícticas promisorias. In L. F. Garcés-Giraldo (Ed.), *Tópicos para el manejo de especies ícticas silvestres en confinamiento*. (1st ed., pp. 106–147). Editorial Lasallista.
- Diemer, O., Neu, D. H., Bittencourt, F., Signor, A., Boscolo, W. R., & Feiden, A. (2012). Eugenol como anestésico para jundiá (*Rhamdia voulezi*) em diferentes pesos. *Semina: Ciências Agrárias*, 33(4), 1495–1500. <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2012v33n4p1495>
- Elyara, M., Pereira-Da-Silva, I., Franco De Oliveira, R. H., Rosa, M. A., Iii, R., Pereira, M., & Ii, C. (2009). Efeito anestésico do óleo de cravo em alevinos de lambari. *Ciência Rural*, 39(6), 1851–1856.
- Fujisawa, S., & Murakami, Y. (2016). Eugenol and Its Role in Chronic Diseases. *Dvances in Experimental Medicine and Biology A*, 929, 45–66. https://doi.org/https://doi.org/10.1007/978-3-319-41342-6_3
- Hassan, H. A., Geniady, M. M., Abdelwahab, S. F., Abd-Elghany, M. I., Sarhan, H. A., Abdelghany, A. A., Kamel, M. S., Rodriguez, A. E., & Alio, J. L. (2018). Topical Eugenol Successfully Treats Experimental Candida albicans-Induced Keratitis. *Ophthalmic Research*, 60(2), 69–79. <https://doi.org/https://doi.org/10.1159/000488907>

- Inoue-Aoki, L. A., dos Santos-Neto, C., & Moraes, G. (2003). Clove oil as anaesthetic for juveniles of matrinxã *Brycon cephalus* (Gunther, 1869). *Ciência Rural*, 33(5), 943–947. <https://doi.org/10.1590/s0103-84782003000500023>
- Inoue, L. A. K. A., Afonso, L. O. B., Iwama, G. K., & Moraes, G. (2005). Effects of clove oil on the stress response of matrinxã (*Brycon cephalus*) subjected to transport. *Acta Amazonica*, 35(2), 289–295. <https://doi.org/10.1590/s0044-59672005000200018>
- Iwama, G.K and Ackerman, P. A. (1994). Anaesthetics. In T. . Hochachka, P.W. and Mommsen (Ed.), *Biochemistry and molecular biology of fishes, 3 Analytical techniques* (1st ed., p. 685). Elsevier Science B.V.
- Keene, J. L., Noakes, D. L. G., Moccia, R. D., & Soto, C. G. (1998). The efficacy of clove oil as an anaesthetic for rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Aquaculture Research*, 29(2), 89–101. <https://doi.org/https://doi.org/10.1046/j.1365-2109.1998.00927.x>
- Keene, J. L., Noakes, L. G., & Moccia, R. D. (1998). The efficacy of clove oil as an anaesthetic for rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). In *Aquaculture Research* (Vol. 29).
- Lujan, N. K., Hidalgo, M., & Stewart, D. J. (2010). Revision of Panaque (Panaque), with descriptions of three new species from the Amazon Basin (Siluriformes, Loricariidae). *Copeia*, 4, 676–704. <https://doi.org/10.1643/CI-09-185>
- Maldonado-Ocampo, J. A., Ortega-Lara, A., Usma-Oviedo, J., Galvis-Vergara, G., Villa-Navarro, F., Vásquez-Gamboa, L., Prada-Pedrerros, S., & Ardila-Rodríguez, C. (2005). *PECES DE LOS ANDES DE COLOMBIA. Guía de campo* (Instituto de Investigación de Recursos Biológicos «Alexander von Humboldt» (ed.); Primera ed). Ramos López Editorial. http://awsassets.panda.org/downloads/peces_de_los_andes_de_colombia.pdf
- Maldonado-Ocampo, J. A., Vari, R. P., & Usma, J. S. (2008). Lista de los peces de agua dulce de Colombia. *Biota Colombiana*, 9(2 SE-Listados taxonómicos). <http://revistas.humboldt.org.co/index.php/biota/article/view/201>
- Marchese, A., Barbieri, R., Coppo, E., Orhan, I. E., Daglia, M., Nabavi, S. F., Izadi, M., Abdollahi, M., Nabavi, S. M., & Ajami, M. (2017). Antimicrobial activity of eugenol and essential oils containing eugenol: A mechanistic viewpoint. *Critical Reviews in Microbiology*, 43(6), 668–689. <https://doi.org/https://doi.org/10.1080/1040841X.2017.1295225>
- Oliveira, R. H. F. de, Pereira-da-Silva, E. M., & Viegas, E. M. M. (2019). Clove oil attenuates stress responses in lambari, *Astyanax altiparanae*. *Aquaculture Research*, 50(11), 3350–3356. <https://doi.org/10.1111/are.14293>
- Park, M. O., Hur, W. J., Im, S. Y., Seol, D. W., Lee, J., & Park, I. S. (2008). Anaesthetic efficacy and physiological responses to clove oil-anaesthetized kelp grouper *Epinephelus bruneus*. *Aquaculture Research*, 39(8), 877–884. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2008.01941.x>
- Purbosari, N., Warsiki, E., Syamsu, K., & Santoso, J. (2019). Natural versus synthetic anesthetic for transport of live fish: A review. In *Aquaculture and Fisheries* (Vol. 4, Issue 4, pp. 129–133).

KeAi Communications Co. <https://doi.org/10.1016/j.aaf.2019.03.002>

Simões, L. N., Gomide, A. T. M., Almeida-Val, V. M. F., Val, A. L., & Gomes, L. C. (2012). O uso do óleo de cravo como anestésico em juvenis avançados de tilápia do nilo (*Oreochromis niloticus*). *Acta Scientiarum-Animal Sciences*, 34(2), 175-181. <https://doi.org/10.4025/actascianimsci.v34i2.13022>

Simões, L. N., Paiva, G., & de Carvalho Gomes, L. (2010). Óleo de cravo como anestésico em adultos de tilápia-do-nilo. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 45(12), 1472-1477. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2010001200019>

Small, B. C. (2003). Anesthetic efficacy of metomidate and comparison of plasma cortisol responses to tricaine methanesulfonate, quinaldine and clove oil anesthetized channel catfish *Ictalurus punctatus*. *Aquaculture*, 218(1), 177-185. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(02\)00302-2](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0044-8486(02)00302-2)

Velisek, J., Svobodova, Z., Piackova, V., Groch, L., & Nepejchalova, L. (2005). Effects of clove oil anaesthesia on common carp. *Veterinarni Medicina*, 2005(523), 269-275.

Vidal, L. V. O., Alabinati, R. C. B., Santos-Neto, E. B., Deus, B. T., & Albinati, A. C. L. (2007). Influência do peso de juvenis de matrinxã (*Brycon cephalus*) e tambaqui (*Colossoma macropomum*) à ação anestésica do eugenol. *Rev. Bras. Saúde Prod. An.*, 8(3), 212-216.