

Acompañamiento en el uso de anestésico eugenol en juveniles de tilapias (*Oreochromis niloticus*)

Eileenive Pamela Delgado Salas



**UNIVERSIDAD DEL PACÍFICO
PROGRAMA DE TECNOLOGÍA EN ACUICULTURA
BUENAVENTURA, COLOMBIA
2023**

Acompañamiento en el uso de anestésico eugenol en juveniles de tilapia (*Oreochromis niloticus*)

Eileenive Pamela Delgado Salas

Tesina presentada como requisito para optar al título de Tecnólogo En Acuicultura

Directora:

**Mg. Sandra Liliana Lamouroux
Codirector (a): PhD. Olga Rosero**

**Línea de Investigación
Recursos Hidrobiológicos**

**UNIVERSIDAD DEL PACÍFICO
PROGRAMA DE TECNOLOGÍA EN ACUICULTURA
BUENAVENTURA, COLOMBIA
2023**

RESUMEN

La manipulación de peces con técnicas de anestesia es común en la acuicultura, como la captura, el transporte, la clasificación, el marcado, el muestreo, la obtención de muestras biológicas (sangre, gametos) y la cirugía, la inducción a través de hormonas en la puesta, etc. Debido a sus rápidos tiempos de inducción y recuperación, el eugenol también se usa como anestésico en peces. Se estudio determinó la concentración de eugenol con efecto anestésico en juveniles de tilapia (*Oreochromis niloticus*), iniciando con la determinación del tiempo de uso del anestésico y de recuperación, y se estableció las condiciones de calidad de agua durante la anestesia y el establecimiento de la dosis adecuada de eugenol con efecto anestésico. Los animales fueron expuestos a tres concentraciones de la solución anestésica (10,15,20 mg/L de eugenol). Los animales expuestos a la mayor concentración de eugenol (20 mg/L) entraron rápidamente en sedación; pero también, fueron los que se recuperaron más rápido. La concentración anestésica más efectiva encontrada en este trabajo fue de 10 mg/L de eugenol para juveniles de tilapias (*Oreochromis niloticus*).

Palabras claves: *Anestésico, Sedación, Cuidado, salud de los peces.*

ABSTRACT

Manipulation of fish with anesthesia techniques is common in aquaculture, such as capturing, transporting, sorting, marking, sampling, obtaining biological samples (blood, gametes) and surgery, induction through hormones in setting, etc. Due to its rapid induction and recovery times, eugenol is also used as an anesthetic in fish. The study determined the concentration of eugenol with anesthetic effect in juvenile tilapia (*Oreochromis niloticus*), beginning with the determination of the time of use of the anesthetic and recovery, and the water quality conditions were established during anesthesia and the establishment of the adequate dose of eugenol with anesthetic effect. The animals were exposed to three concentrations of the anesthetic solution (10,15,20 mg/L of eugenol). Animals exposed to the highest concentration of eugenol (20 mg/L) quickly entered sedation; but also, they were the ones who recovered the fastest. The most effective anesthetic concentration found in this work was 10 mg/L of eugenol for juvenile tilapia (*Oreochromis niloticus*).

Keywords: *Anesthetic, Sedation, Care, fish health.*

CONTENIDO

INTRODUCCIÓN	1
1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	2
2. OBJETIVOS	3
3.1 OBJETIVO GENERAL	3
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	3
3. MARCO TEÓRICO	4
4. METODOLOGÍA	9
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	13
6. CONCLUSIÓN	17
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	18

Lista de Tablas

Tabla 1. Etapas de la anestesia en peces	4
Tabla 2. Dosis utilizadas y coste del aceite de clavo y de los anestésicos más comunes para peces.	5
Tabla 3. Características del estado de anestesia y recuperación inmersos en eugenol.	5
Tabla 4. Los “Cinco Principios de Libertad” y las necesidades cubiertas que garantizan el bienestar animal.	6
Tabla 5. Especies y dosis que han sido trabajadas con eugenol.	6
Tabla 6. Concentraciones de la solución de Eugenol trabajada.	10
Tabla 7. Dosis, pesos y tallas de los organismos trabajados.	13
Tabla 8. Relación de tiempos de respuesta a la anestesia y tiempos de recuperación.....	14

Lista de Figuras

Figura 1. Ubicación geográfica del proyecto.....	9
Figura 2. Unidad experimental.....	9
Figura 3. Selección de organismos para el procedimiento.	10
Figura 4. Organismo expuesto al eugenol.....	11
Figura 5. Pesaje y medición de los organismos trabajos.....	11
Figura 6. Organismos en proceso de recuperación.....	12

Lista de graficas

Grafica 1. Relación peso de los organismos en las diferentes dosis.....	14
Grafica 2. Relación tiempo de respuesta a la anestesia en relación a la dosis.....	15
Grafica 3. Relación tiempo de recuperación en relación a la dosis.....	16

INTRODUCCIÓN

El uso de anestésicos de bajo costo en peces ha adquirido gran importancia además de las razones económicas porque ayudan a establecer buenas prácticas de manejo en los sistemas de producción (Alvarez Perdomo & Castillo Pastuzan, 2016).

La triclaína metanosulfato (MS-222), la quinaldina y el 2-fenoxietanol son anestésicos utilizados tradicionalmente en la piscicultura; sin embargo, tienen limitantes debido a su alto costo y toxicidad, y también se descubrió que aumentan la respuesta al estrés. (Millan Ocampo, Torres Cortes, & Marin Mendez, 2012)

Los sedantes se administran con frecuencia en agua, los cuales se absorben a través de las branquias, a pesar de que pueden inyectarse (Guillermo Prieto, Mancini, & Urzua, 2015)

El eugenol, también conocido como aceite de clavo, se extrae de las hojas, flores y tallos de los árboles de clavo, y se usa ampliamente en acuicultura como un anestésico para peces y moluscos, especialmente para la sedación y anestesia a bajas concentraciones (Millan Ocampo, Torres Cortes, & Ramirez, 2012)

1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En el pacífico colombiano no existe una investigación sobre el estudio de los anestésicos utilizados en acuicultura (eugenol o aceite de clavo), estos son de importancia para los manejos que se realizan en los sistemas de producción. Por tal razón se propone hacer un estudio que garanticen la dosis adecuada en donde se logre un efecto anestésico reversible y sin efectos negativos.

2. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GENERAL

- Determinar la concentración de eugenol con efecto anestésico en juveniles de tilapia (*Oreochromis niloticus*)

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar el tiempo de uso del anestésico y de recuperación.
- Establecer las condiciones de calidad de agua durante la anestesia.
- Establecer la dosis adecuada de eugenol con efecto anestésico.

3. MARCO TEÓRICO

La manipulación de peces con técnicas de anestesia es común en la acuicultura, como la captura, el transporte, la clasificación, el marcado, el muestreo, la obtención de muestras biológicas, la cirugía, la inducción de hormonas de la puesta (García Gómez & De la Gandara, 2002).

Para lograr esto, es necesario someter a los animales a un estado de sedación por un breve período mientras se llevan a cabo estas actividades, con el fin de reducir el impacto negativo en los peces después de la manipulación biométrica (Sorroza, Ajila, & Santacruz Reyes, 2020).

Sin embargo, para lograrlo, es necesario tener conocimientos sobre la cantidad de anestesia necesaria, la cual depende del tipo de anestésico y de varios factores, incluida la temperatura, la dureza, la salinidad y la concentración de oxígeno en el agua, la duración de la exposición, el peso corporal, la relación entre el área branquial, el cuerpo y la especie (Llanos, Monteza, & Scotto, 2012).

El anestésico generalmente se disuelve en el agua y llega al pez por medio de las branquias, además también se puede absorber en pequeñas partes a través de la piel (Sorroza, Ajila, & Santacruz Reyes, 2020).

Una ventaja de la anestesia en los peces es que permite manipular al animal durante un corto período de tiempo fuera del agua, reduciendo el riesgo de estrés (Hinestroza & Serrano Martínez, 2013).

Los métodos de inyección intramuscular e intraperitoneal son los más comunes. La aplicación directa del medicamento sobre el seno dorsal es una opción poco utilizada. (González, 2010).

Tabla 1. Etapas de la anestesia en peces

Estadio	Características
1. Sedación ligera	Ligera pérdida de reactividad a estímulos externos, equilibrio normal.
2. Sedación profunda	pérdida total de reacción a estímulos externos; ligero aumento de la tasa de ventilación opercular; equilibrio normal.
3. Pérdida parcial del equilibrio	Cuando comienza a perder el equilibrio y responde poco al cambio de la posición; disminuido tono muscular; reacción a vibraciones o estímulos táctiles fuertes
4. Pérdida total del equilibrio	disminuido tono muscular y equilibrio; ventilación opercular rápida; reacción a estímulos de presión en el pedúnculo caudal.

5. Pérdida de reflejos	Pérdida total de reacción; movimientos operculares superficiales. No reacción a estímulos de presión en el pedúnculo caudal.
6. Colapso medular	Jadeo seguido del cese de movimientos operculares; paro cardíaco.

Fuente: (Guillermo Prieto, Mancini, & Urzua, 2015).

Tabla 2. Dosis utilizadas y coste del aceite de clavo y de los anestésicos más comunes para peces.

Agente anestésico	Dosis habitual (ppm)	Coste (€/m3)
MS-222™	80	127
Clorobutanol	300	26
Fenoxietanol	300	13
Benzocaína	100	8
Quinaldina	40	6
Aqui-S'	20	9
Aceite de clavo	20	4

(Garcia Gomez & De la Gandara, 2002)

Tabla 3. Características del estado de anestesia y recuperación inmersos en eugenol.

Estadio de anestesia	Característica	Estadio de recuperación	Característica
I	Pérdida parcial del eje de nado.	I	Recuperación del movimiento opercular.
II	Pérdida total del eje de nado.	II	Recuperación del movimiento de aletas.
III	Colapso medular.	III	Recuperación total del eje de Nado.
		IV	Recuperación del reflejo de huida

(Millan Ocampo, Torres Cortes, & Marin Mendez, 2012)

Propiedades Farmacológicas: Cuando el Eugenol se une al óxido de zinc, ocurre una reacción de quelación, formándose eugenolato de zinc (ZOE) (Gonzalez Escobar, 2002)

Toxicidad: Aunque se usa con frecuencia, el Eugenol puede causar lesiones cáusticas o quemaduras superficiales en los tejidos blandos cuando se aplica directamente (Gonzalez Escobar, 2002).

La eficacia de una terapia farmacológica en peces depende de una serie de factores. Estos incluyen el diagnóstico preciso del agente causal y la enfermedad causada por él (Gonzalez, 2010).

Los beneficios del aceite de clavo en comparación con otros anestésicos comunes son los siguientes: La comercialización de peces tratados se caracteriza por su alta eficacia a bajas dosis, bajo costo, falta de toxicidad, posibles efectos colaterales positivos y un periodo de carencia innecesario (Garcia Gomez & De la Gandara, 2002).

A temperaturas más altas, el eugenol se disuelve fácilmente en agua con una agitación enérgica, pero a temperaturas más bajas, se puede preparar como una solución al 10% en etanol. El eugenol se ha utilizado como un anestésico para peces acuícolas dulces (Llanos, Monteza, & Scotto, 2012).

El eugenol, su principio activo, representa entre el 70 y el 95 % del aceite esencial de clavo en concentraciones (Perez Ribeiro & Santos Costa , 2010).

En concentraciones bajas, el eugenol tiene la capacidad de disminuir la transmisión sináptica de la zona neuromuscular y es un bloqueador irreversible de la conducción nerviosa (Gonzalez Escobar, 2002).

Tabla 4. Los “Cinco Principios de Libertad” y las necesidades cubiertas que garantizan el bienestar animal.

Principio de libertad	Necesidades cubiertas
I. Libres de sed, hambre y malnutrición	Acceso directo a agua potable y a una dieta que garantice el vigor y la salud
II. Libres de malestar y vulnerabilidad	Acceso a un ambiente adecuado que incluya un lugar de abrigo y descanso confortable
III. Libres de dolor, lesiones y enfermedades	Prevenir, diagnosticar y tratar rápidamente las posibles enfermedades
IV. Libres de miedo y angustia (agotamiento)	Asegurar las condiciones y el trato que eviten el sufrimiento mental
V. Libres para expresar su comportamiento	Proporcionar espacio suficiente, instalaciones adecuadas y compañía de congéneres

(Jerez Cepa, Ruiz Jarabo, & Manzera, 2019)

Tabla 5. Especies y dosis que han sido trabajadas con eugenol.

Especie	Dosis recomendada (Eugenol)	Dosis Optima	Autor

Heckel (<i>Xiphophorus helleri</i>)	125 mgL	Machos: 100 mgL Hembras: 100 mgL	(Llanos & Scotto, 2010)
Lenguado (<i>Solea senegalensis</i>)	500 y 600 mgL	500 y 600 mgL	(García & Aldegunde, 2007)
Paiches (<i>Arapaima gigas</i>)	25 mgL	100 mgL	(Hinestroza & Serrano Martinez, 2013)
Trucha Arco iris (<i>Oncorhynchus mykiss</i>)	75 mgL	75 mgL	(Guillermo Prieto, Mancini, & Urzua, 2015)
Pacu (<i>Piaractus mesopotamicus</i>)	30 mgL	150 mgL	(Pérez Ribeiro, Santos Costa, Eloy, Vieira e Rosa, & Solis Murgas, 2010)
Pavón (<i>Cichla orinocensis</i>)	20 mgL	35 mgL	(Alvarez Perdomo & Castillo Pastuzan, 2016)
Escalares (<i>Pterophyllum scalare</i>)	40 mgL	40 mgL	(Millan Ocampo, Torres Cortes, & Marin Mendez, 2012)

El Eugenol es uno de los anestésicos naturales más conocidos y utilizados. Aunque los anestésicos sintéticos pueden ser más efectivos que los anestésicos naturales en algunos casos, se prevé que los anestésicos sintéticos se investigarán y utilizarán más en el futuro (Cano Ruiz & Betancur Gonzales, 2022).

Las características ideales de los agentes anestésicos se basan en que la droga debe ser de fácil administración, lograr una inducción rápida, preferiblemente en menos de tres minutos y sin que produzca efectos adversos en los peces, Además, debe poder mantenerse a los animales en el estado de sedación elegido, proporcionando una inmovilización adecuada y una analgesia eficaz. (Urzua pizarro, y otros, 2022)

En términos de toxicidad, mecanismos de acción y efectos en el medio acuático, todos los productos químicos tienen características distintivas. Según algunas investigaciones, el uso indiscriminado de productos artificiales como antibacterianos y anestésicos, entre otros, sin un control adecuado tiene efectos perjudiciales en el medio ambiente (Sorrosa, Ajila, & Santacruz Reyes, 2020).

Autores como Hoskones & Pirhonen (2004) afirman que el eugenol puede afectar negativamente la fisiología y el crecimiento de los peces. Se descubrió que el uso de eugenol en la perca regia puede causar estrés, lo que puede afectar negativamente la calidad de la carne (Chacón Guzmán, Carvajal, Herrera Ulloa, & Pauletto, 2019).

Los anestésicos deben ser solubles en agua, tener un tiempo de sedación corto y una recuperación rápida y espontánea, no ser tóxicos, no dejar restos, tener un amplio espectro de seguridad y ser accesibles y económicos para los organismos acuáticos (Cortes Garcia & Rodriguez Gutierrez, 2022).

El eugenol se cree que es mutagénico pero no cancerígeno. Se ha descubierto que tiene características antivirales, antibióticas y antimicóticas (Llanos, Monteza, & Scotto, 2012).

Estos efectos pueden disminuirse con el uso de anestésicos o analgésicos, los cuales producen relajación muscular, estabilización autonómica, analgesia, inducen inconsciencia y reducen el metabolismo, consumo de oxígeno y excreción. (Zambrano Bermudez & Santana Piñeros, 2023)

En la investigación pesquera y acuicultura, el uso de anestesia facilita muchos procedimientos, como la inseminación artificial, la inducción del desove, la obtención de peso y longitud corporal, la realización de operaciones, etc. transportar biopsias (Llanos & Scotto, 2010)

En peces el Eugenol ha sido utilizado en varias especies y se reporta como una sustancia efectiva para lograr la anestesia, sin aparentes riesgos e incluso sin efectos adversos sobre el comportamiento tomando como base la forma del pez, estos reportes se hacen sobre especies fusiformes principalmente pelágicas. (Cano Ruiz & Betancur Gonzales, 2022)

El eugenol tiene tiempos de inducción y recuperación cortos; sin embargo, el tiempo de recuperación es más largo que el de los anestésicos convencionales, pero funciona a concentraciones más bajas que las requeridas con MS-222, benzocaína y 2-fenoxietanol (Llanos, Monteza, & Scotto, 2012)

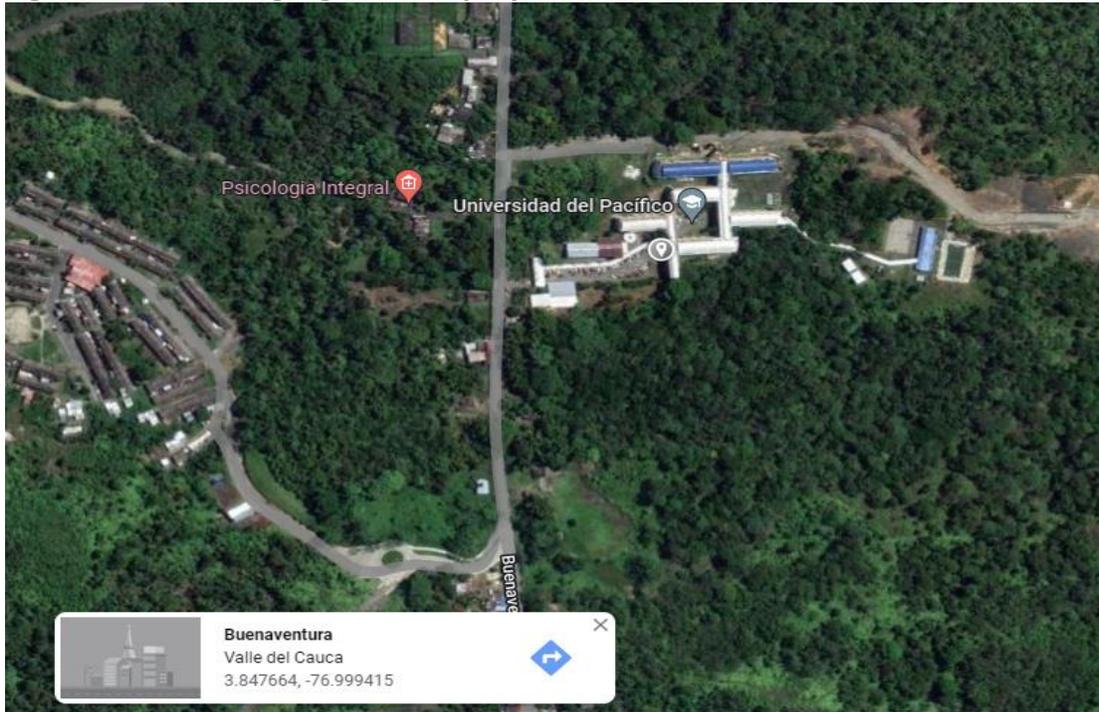
Según algunas investigaciones, el uso indiscriminado de productos artificiales como antibacterianos y anestésicos, entre otros, sin un control adecuado tiene efectos perjudiciales en el medio ambiente (Sorroza, Ajila, & Santacruz Reyes, 2020)

La implementación de estrategias de manipulación efectivas en el manejo de peces juveniles ha sido crucial para prevenir lesiones, estrés, enfermedades y mortalidad. Los anestésicos son una opción de tratamiento esencial en este caso; sin embargo, la falta de conocimiento sobre las dosis adecuadas, los tiempos de exposición y los efectos en la salud de los peces podría resultar en una pérdida financiera (Chacón Guzmán, Carvajal, Herrera Ulloa, & Pauletto, 2019).

4. METODOLOGÍA

El proyecto se desarrollará en la Universidad del Pacífico km 13 barrio el triunfo en la Ciudad de Buenaventura Valle del cauca. Dicha ubicación se indica en la figura 1

Figura 1. Ubicación geográfica del proyecto.



Fuente: Google maps

En un acuario de vidrio de un metro de largo por 50 cm de ancho, se colocaron divisiones para crear 3 espacios cada uno con una capacidad de 10 litro viables, estos espacios fueron identificados con las letras A, B y C. En la figura 2, se indica la distribución.

Figura 2. Unidad experimental.



Fuente: Delgado, 2023

Las tilapias fueron obtenidas de los tanques que posee la Universidad en el campus de los cuales se tomaron 50 juveniles que presentaran tallas similares, los cuales fueron llevados en un recipiente plástico y mantenidos en este hasta el trabajo con el anestésico; siendo mantenidos con aireación constante.

Para el desarrollo del trabajo se trabajaron con tres dosis diferentes para establecer el tiempo de cada fase de sedación causada por el eugenol, como se indica en la tabla 6.

Tabla 6. Concentraciones de la solución de Eugenol trabajada.

Dosis	Cantidad de solución madre (ml)
1	20
2	15
3	10

Fuente: Delgado, 2023

La dosis madre se realizó disolviendo 1,5 ml de eugenol en 100ml de etanol al 99%

Primera dosis.

Los espacios de los acuarios ya identificados como A, B y C; se llenaron con 10 litros de agua reposada y se agregó la dosis de 20ml en cada espacio se introdujo un juvenil de tilapia con una diferencia de tiempo entre los espacios de tres minutos. Tan pronto se introdujo el organismo se comenzó a establecer el tiempo en que este presentaba respuestas a las fases de sedación propuesta por Sorroza, L. Ajila, C y Santacruz-Reyes, R. 2020; estos tiempos fueron registrados. Una vez el organismo presentaba las características de la fase 5 este era llevado a un recipiente de recuperación con agua libre de eugenol y con aireación constante y se estableció el tiempo de recuperación. El proceso se indica en las figuras 3 y 4.

Figura 3. Selección de organismos para el procedimiento.



Fuente. Delgado (2023).

Figura 4. Organismo expuesto al eugenol.



Mientras los organismos se encontraban sedados se realizó el pesaje y toma de medidas a los organismos. Tal como se muestra en las figuras 5 y 6.

Figura 5. Pesaje y medición de los organismos trabajos.



Figura 6. Organismos en proceso de recuperación.



Este mismo protocolo se realizó con las dosis manejadas.

Este procedimiento se realizó con doce organismos por dosis trabajada; los organismos fueron seleccionados al azar de los organismos disponibles. Ningún organismo fue anestesiado por segunda vez para evitar acumulación del anestésico.

Se realizó el promedio del tiempo de respuesta al anestésico como el tiempo de recuperación.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se encontró que las tilapias trabajadas tenían pesos y tallas similares, los resultados se presentan en la tabla 7.

Tabla 7. Dosis, pesos y tallas de los organismos trabajados.

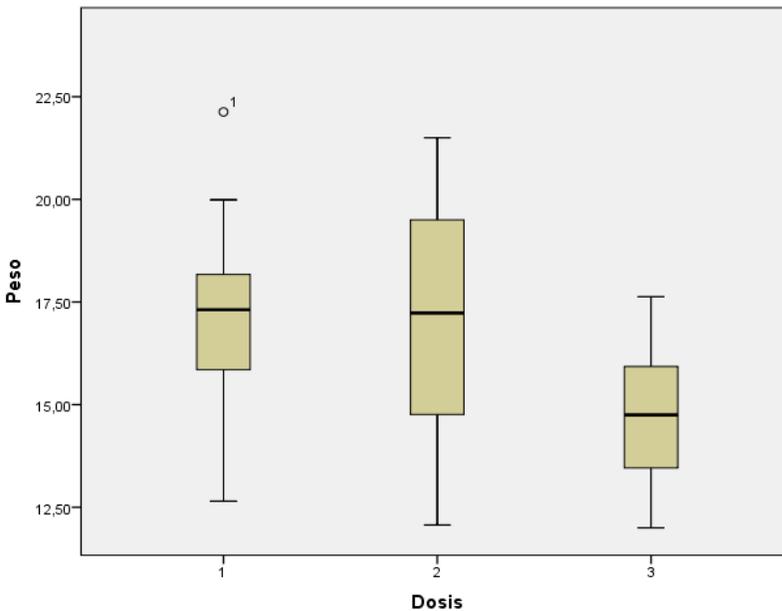
Dosis	Peso (gr)	Lt (cm)	Ls (cm)
20 ml	17,4 ± 2,4	11,8 ± 0,6	9,35 ± 0,4
15 ml	16,9 ± 2,9	9,9 ± 0,7	7,9 ± 0,54
10 ml	14,8 ± 1,9	9,3 ± 0,4	7,4 ± 0,4

La tabla 7 presenta los resultados de la investigación, que incluye las dosis de anestésico eugenol administradas a los juveniles de tilapia (*Oreochromis niloticus*), así como sus pesos y tallas correspondientes. Estos resultados proporcionan una visión general de cómo respondieron los peces a diferentes dosis de anestésico.

En la tabla, se observa que los peces que recibieron la dosis de 20 ml de eugenol tenían un peso promedio de 17,4 gramos, una longitud total (Lt) promedio de 11,8 cm y una longitud estándar (Ls) promedio de 9,35 cm. Los peces que recibieron 15 ml tenían pesos promedio de 16,9 gramos, una Lt promedio de 9,9 cm y una Ls promedio de 7,9 cm, mientras que los que recibieron 10 ml tenían pesos promedio de 14,8 gramos, una Lt promedio de 9,3 cm y una Ls promedio de 7,4 cm.

Como se puede apreciar en la siguiente grafica los pesos de los organismos no presentan diferencias significativas. Esto sugiere que se trabajó con peces de pesos similares en cada grupo de dosis. Como se aprecia en la figura 1.

Grafica 1. Relación peso de los organismos en las diferentes dosis.



Los bigotes de la gráfica se están solapando por lo que podemos decir que no hay diferencias entre los pesos de los peces, porque se manejó animales con pesos similares.

La Tabla 8 presenta información sobre los tiempos de respuesta a la anestesia y los tiempos de recuperación en función de las diferentes dosis de eugenol. Se observa que los peces que recibieron 20 ml de eugenol tuvieron un tiempo de anestesia promedio de 0,59 minutos y un tiempo de recuperación promedio de 1,22 minutos. En comparación, los peces que recibieron 15 ml tuvieron un tiempo de anestesia promedio de 1,7 minutos y un tiempo de recuperación promedio de 2,13 minutos, mientras que los que recibieron 10 ml tuvieron un tiempo de anestesia promedio de 3,26 minutos y un tiempo de recuperación promedio de 2,03 minutos.

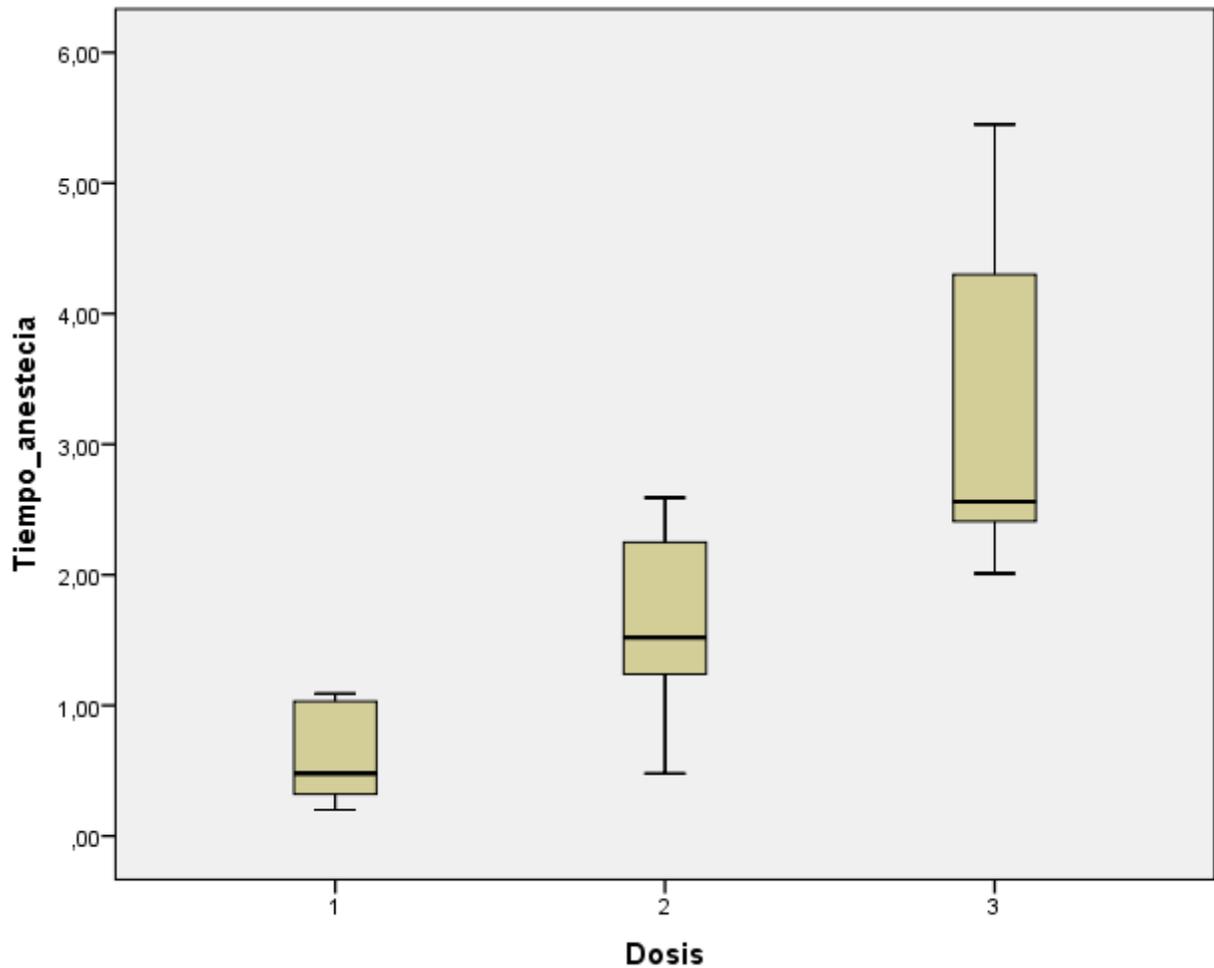
Tabla 8. Relación de tiempos de respuesta a la anestesia y tiempos de recuperación.

Dosis	Tiempo de anestesia	Tiempo recuperación
20 ml	0,59 ± 0,34	1,22 ± 0,6
15 ml	1,7 ± 0,7	2,13 ± 1,06
10 ml	3,26 ± 1,2	2,03 ± 0,7

Como se puede apreciar en la gráfica 2, las dosis 1 y 2 no presentan diferencias por que las barras se solapan, pero la dosis 1 es muy diferente a la dosis 3, es decir, aunque los animales sean de pesos similares se comportan diferentes en reacción al anestésico, donde se duermen más rápido los peces de las dosis 1, mientras que los peces de la dosis 3 se demoran en dormir. Los resultados

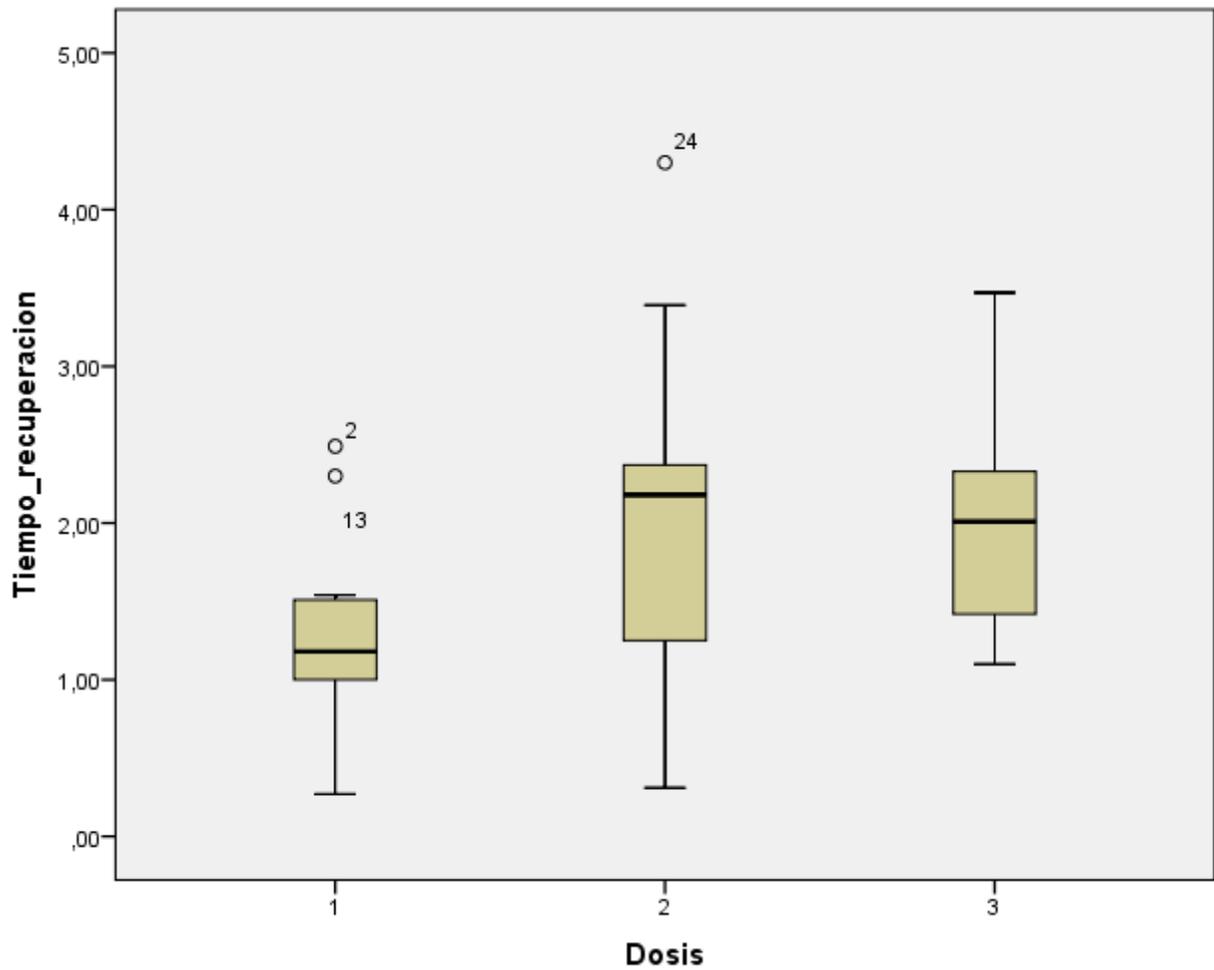
anteriores sugieren que, aunque los peces tengan pesos similares, reaccionan de manera diferente al anestésico.

Grafica 2. Relación tiempo de respuesta a la anestesia en relación a la dosis.



En relación al tiempo de recuperación es similar, pero se encuentra que los peces de la dosis 1 se recupera más rápido que los peces de la dosis 3. Se indica en la figura 3.

Grafica 3. Relación tiempo de recuperación en relación a la dosis.



Estos resultados indican que la respuesta a la anestesia y el tiempo de recuperación pueden variar según la dosis de eugenol administrada, incluso cuando se trabaja con peces de pesos similares. Esto puede tener implicaciones importantes para el manejo y la manipulación de los peces en la acuicultura y la investigación científica.

6. CONCLUSIÓN

Para trabajar con organismos anestesiados es necesario tener en cuenta en que procesos se trabajaran ya que se encontró que el tiempo de respuesta al anestésico y el tiempo de recuperación en relación a dosis varia.

Si se desea manipular la dosis 3 sería la más indicada ya que el tiempo de recuperación es más largo por que pasa después del minuto mientras en la dosis 1 y 2 los peces se recuperación antes del minuto ya se están recuperando.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alvarez Perdomo, N., & Castillo Pastuzan, E. (2016). Eugenol como anestésico para el manejo de juveniles de Pavó. 107-110.
- Cano Ruiz, J., & Betancur Gonzales, E. (2022). Aceite de Clavo (Eugenol®) como Anestésico en la *lasallista de investigaciones*, 184.
- Chacón Guzmán, J., Carvajal, M., Herrera Ulloa, Á., & Pauletto, S. (2019). Concentración y tiempo máximo de exposición de juveniles. *ciencias marinas y costeras*, 11(1), 1-17. doi:DOI: <https://doi.org/10.15359/revmar.11-1.1>
- Cortes Garcia, A., & Rodriguez Gutierrez, M. (2022). USO DE MENTOL, ESENCIA DE CLAVO Y BENZOCAINA COMO ANESTÉSICOS . 3.
- Garcia Gomez, A., & De la Gandara, F. (2002). *Utilización del aceite de clavo, Syzygium aromaticum L.* España: INSTITUTO ESPAÑOL DE OCEANOGRAFÍA.
- García, M., & Aldegunde, M. (2007). *Evaluación de la eficacia del 2-fenoxietanol como anestésico*. Vigo: Laboratorio de Fisiología Animal (Instituto de Acuicultura).
- Gonzalez Escobar, R. (1 de julio de 2002). Eugenol: propiedades farmacológicas y toxicológicas. Ventajas y desventajas de su uso . pág. 6.
- Gonzalez, J. F. (febrero de 2010). Farmacología, Terapéutica y Anestesia de Peces. 6(1), 50-63. Obtenido de <https://www.revistas.veterinariosvs.org/index.php/cima/article/view/18>
- Guillermo Prieto, C., Mancini, M., & Urzua, N. (7 de julio de 2015). Valoración de la actividad depresora de diferentes concentraciones de eugenol . *catedra de farmacología, facultad de agronomía y veterinaria*, págs. 21-25.
- Hernandez Saavedra, N. Y. (2021). *Las levaduras y su ecología*. Baja California: Centro de investigaciones biológicas del noroeste. Obtenido de <https://cibnor.repositorioinstitucional.mx/jspui/handle/1001/2391>
- Hinestroza, E., & Serrano Martinez, E. (2013). *efecto anestésico del metasulfonato de tricaina en paiches*. Peru: Facultad de Veterinaria y Zootecnia.
- Jerez Cepa, I., Ruiz Jarabo, I., & Manzera, J. M. (4 de Octubre de 2019). Atenuación del Estrés a través de la Dieta y mediante el Empleo de Anestésicos durante el transporte. 85-92. doi:<https://doi.org/10.5565/rev/da.463>.
- Lallemand. (Octubre de 2013). MANEJO DEL ACETALDEHÍDO. *Enoreports*, 2. Obtenido de http://www.enoreports.com/enoreports/not_acetaldeh_lallemand0913.htm
- Llanos, C., & Scotto, C. (2 de julio de 2010). *The Biologist*, 179-188. Obtenido de <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=4004842>
- Llanos, C., Monteza, C., & Scotto, C. (2012). *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 429-440. Obtenido de http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172012000400005
- Mendoza, M. (10 de 08 de 2005). Importancia de la identificación de levaduras. 4. Obtenido de http://ve.scielo.org/scielo.php?pid=S1315-25562005000100004&script=sci_arttext

- Millan Ocampo, L., Torres Cortes, A., & Marin Mendez, G. (2012). Peru: Revista de Investigaciones Veterinarias. Obtenido de <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=371838864007>
- Millan Ocampo, L., Torres Cortes, A., & Ramirez, G. (2 de abril de 2012). peru: Revista de Investigaciones Veterinarias.
- Pardo Fernandez, L. A. (1990). Activación in vitro del sistema RAS-adenilato ciclasa de *Saccharomyces cerevisiae* por la glucosa y sus análogos. *Repositorio Institucional de la Universidad de Oviedo*, 1. Obtenido de <http://hdl.handle.net/10651/14278>
- Pérez Leonard, H. (2007). *Beneficios de las levaduras vivas en la obtención de productos con actividad probiótica*. Cuba: ICIDCA. Obtenido de <https://www.redalyc.org/pdf/2231/223120666005.pdf>
- Peréz Ribeiro, P. A., Santos Costa, L., Eloy, Â. A., Vieira e Rosa, P., & Solis Murgas, L. D. (2010). ACEITE DE CLAVO COMO ANESTÉSICO PARA EL PEZ PACU (*PIARACTUS MESOPOTAMICUS*). *An. Vet*, 69-76. Obtenido de <https://digitum.um.es/digitum/bitstream/10201/20624/1/Aceite%20de%20clavo%20como%20anestesico%20para%20el%20pez%20pacu%20piaractus%20mesopotamicus..pdf>
- Perez Ribeiro, P., & Santos Costa, L. (2010). *Aceite de clavo como anestésico para el pez pacu*. brasil: Setor de Fisiologia e Farmacologia, Universidad Federal de Lavras.
- Rendueles, J. M. (2019). LAS ESPORAS AEROVAGANTES. España: congreso. Obtenido de <https://www.mastercongresos.com/sesa2019/imagenes/ponencias/aerobiologia/Seminario%20de%20esporas%20aerovagantes/6.-Claves%20identificacion%20esporas%20aerovagantes.pdf>
- Reyes Becerril, M. C. (2008). *EFECTO DE LA LEVADURA MARINA Debaromyces*. CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS. La paz: CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS. Obtenido de http://dspace.cibnor.mx:8080/bitstream/handle/123456789/226/reyes_m.pdf?sequence=1
- Reyes Becerril, M. C. (2008). *EFECTO DE LA LEVADURA MARINA Debaromyces*. Mexico: CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS. Obtenido de http://dspace.cibnor.mx:8080/bitstream/handle/123456789/226/reyes_m.pdf?sequence=1
- Sorroza, L. S., Ajila, C. M., & Santacruz Reyes, R. A. (23 de Diciembre de 2020). Uso de un anestésico artesanal para la manipulación de peces. 267-273. Obtenido de <https://revistaespacios.com/a20v41n49/a20v41n49p22.pdf>
- Sorroza, L., Padilla, D., Acosta, F., Román, L., Acosta, B., & Acosta, F. (2009). *Uso de probióticos en Acuicultura*. No aparece: Instituto Universitario de Sanidad Animal y Seguridad Alimentaria. Obtenido de https://accedacris.ulpgc.es/bitstream/10553/12399/1/0280574_0006_0010.pdf
- Suárez-Machín, C., Garrido-Carralero, N. A., & Guevara-Rodríguez, C. (2016). Levadura *Saccharomyces cerevisiae*. *Red de Revistas Científicas de América Latina*, 23. Obtenido de <https://www.redalyc.org/pdf/2231/223148420004.pdf>
- Torres Osornio, A., & De la Riva de la Riva, G. A. (2017). *CARACTERIZACIÓN DE CEPAS DE LEVADURA PRODUCTORAS*. Instituto tecnologico superior de Irapuato: Jovenes en la Ciencia. Obtenido de

- <http://repositorio.ugto.mx/bitstream/20.500.12059/3469/1/Caracterizaci%C3%B3n%20de%20Cepas%20de%20Levadura%20Productoras%20de%20CE%92-Glucanos%20y%20Ensayo%20Preliminar%20de%20su%20Efecto%20en%20Ratones%20Sometidos%20a%20Estr%C3%A9s.pdf>
- Torres Osornio, A., & De la Riva de la Riva, G. A. (2017). Caracterización de cepas de levaduras reproductoras. *Revista de divulgación científica*, 3(2), 37-41. Obtenido de <http://repositorio.ugto.mx/bitstream/20.500.12059/3469/1/Caracterizaci%C3%B3n%20de%20Cepas%20de%20Levadura%20Productoras%20de%20CE%92-Glucanos%20y%20Ensayo%20Preliminar%20de%20su%20Efecto%20en%20Ratones%20Sometidos%20a%20Estr%C3%A9s.pdf>
- Ulloa Sosa, M. (2015). *Principales tipos de ciclo de vida en las levaduras (Hemiascomycetes). Ciclo de vida de Saccharomyces cerevisiae*. Mexico: instituto de biología . Obtenido de <http://www.siba.unam.mx/irekani/community-list?proyecto=Irekani>
- Urzua pizarro, N., Mancini, M., Messina, M. J., Errecalde, C., Salinas, V., Lüders, C., & Prieto, G. (2022). Evaluación de cuatro anestésicos en peces cebo de agua dulce. *Facultad de medicina veterinaria*, e21486. doi:<http://dx.doi.org/10.15381/rivep.v33i4.21486>
- Vásquez Salazar , J. J., & Aristizábal Gómez, S. C. (2022). *Aislamiento de levaduras oleaginosas a partir residuos orgánicos de la plaza Frutas*. Bogotá: Universidad El Bosque. Obtenido de https://repositorio.unbosque.edu.co/bitstream/handle/20.500.12495/7836/Trabajo%20de%20Grado_2102-005.pdf?sequence=8&isAllowed=y
- Verdugo, A., & González, A. (2008). *Taxonomía tradicional y molecular* . Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas. Chiapas: Escuela de Biología. Obtenido de <https://repositorio.unicach.mx/bitstream/handle/20.500.12753/1742/Lacandonia%20An%CC%83o%20%2C%20vol.%20%2C%20nu%CC%81m.%20%2C%20diciembre%20de%202008%20%28arrastrado%29%207.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Verdugo, A., & Gonzalez, A. (2008). *Taxonomía tradicional y molecular*. Chiapas: Escuela de Biología. Obtenido de <https://repositorio.unicach.mx/bitstream/handle/20.500.12753/1742/Lacandonia%20An%CC%83o%20%2C%20vol.%20%2C%20nu%CC%81m.%20%2C%20diciembre%20de%202008%20%28arrastrado%29%207.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Zambrano Bermudez, D., & Santana Piñeros, A. (2023). Eficacia del eugenol como anestésico en el chame. *Facultad de medicina veterinaria*, 2.
- Zorrosa, L., & Ajila, C. (2020). Uso de un anestésico artesanal para la manipulación de. *Espacios*, 269.