



Palabras clave: *Varroa destructor*, *Apis mellifera*, reproducción

Key Words: *Varroa destructor*, *Apis mellifera*, reproduction

Distintos procedimientos anestésicos para el manejo del pejerrey, *Odontesthes bonariensis* (Valenciennes, 1835) (Pisces, Atheriniformes)

José Fernando Bustingorry, Roberto Ulises Escaray, Olga Susana Donatti y Jorge Laureano Reartes

Instituto de Investigaciones Biotecnológicas
Instituto Tecnológico Chascomús. CONICET-
UNSAM. CC 164. CP: B7130IWA
Camino de Circunvalación km 6. Chascomús.
Buenos Aires.
e-mail: bustingorry@intech.gov.ar

RESUMEN

Se evaluaron tres métodos (benzocaína, MS-222 y shock térmico) para anestésiar peces de una especie muy sensible al manipuleo como es el pejerrey (*Odontesthes bonariensis*). La benzocaína, con respecto al MS-222, resultó efectiva en dosis menores, su costo es mucho más bajo y es de fácil obtención en el mercado. El MS-222 es tóxico para peces presentando mayor mortalidad atribuible a su uso. Las mejores respuestas fueron obtenidas con el shock térmico. Este método es económico, no produce alteraciones posteriores al tratamiento y no ocasiona mortandad durante o después de su aplicación.

ABSTRACT

*Different anesthetic methods for handling pejerrey *Odontesthes bonariensis* (Valenciennes, 1835) (Pisces Atheriniformes)*

*We assessed three different methods (benzocaine, MS-222 and thermal shock) for anesthetizing pejerrey (*Odontesthes bonariensis*), a species of fish which is highly sensitive to handling. Benzocaine was more effective than MS-222 even at the lowest concentrations. In addition, benzocaine is less expensive and readily available in the local market. MS-222 may be toxic to fish and induced higher mortality rates in the assayed fish. Overall, the most satisfactory results were obtained with the thermal shock. This method is cheap, does not induce mortality during or after its administration and presents no post-treatment effects whatsoever.*



INTRODUCCION

El pejerrey, *Odontesthes bonariensis* (Valenciennes, 1835) es un pez muy sensible al manipuleo. Las tareas de captura, clasificación o transporte le ocasionan estrés y lesiones por roces o golpes (se infectan rápidamente por hongos) y, en muchos casos, la muerte es inmediata o diferida y puede afectar al 100% del lote (Ringuelet, 1948; Reartes, 1995; Toda et al, 1998).

El uso de anestésicos es una práctica corriente en acuicultura (en tareas de pesado, medición, separación por talla, reproducción, transporte, etc.) disminuyendo notablemente los riesgos por manipulación. Por esta razón, se ensayó el efecto tranquilizante de anestésicos de uso corriente en acuicultura, como son la benzocaína y el MS-222 (Ferreira, et al, 1979; Jhingram, et al. 1988; Gomes, et al. 2001) y se aplicó el método de shock térmico.

El MS-222 (metano sulfonato de etil m-aminobenzoato) es el más usado, por sus propiedades anestésicas (Jhingram, op cit.); su costo es muy elevado y se ha comprobado ser tóxico para peces. Molinero y González (1995) revelaron que ocasiona perturbaciones en la concentración de hemoglobina,

cortisol, lactato y glucosa en sangre de *Sparus aurata* (Marking, 1967; Laidley y Leatherland, 1989; Thomas y Robertson, 1991).

La benzocaína (etil-p aminobenzoato) se utiliza en su forma más soluble de hidrocloreto de benzocaína, y es de fácil obtención en el mercado. La mayor efectividad de la benzocaína sobre el MS 222 fue comprobada por Ferreira et al (op cit.) en carpa (*Cyprinus carpio*) y tilapia (*Sarotherodon mossambicus*). Según estos autores su eficacia radicaría en la mayor solubilidad en agua del hidrocloreto de p-amino-benzoato. Por otra parte, Ross and Ross, 1999, sostienen que no produce daños en el crecimiento y reproducción de los peces. Sus ventajas son bajo costo, alta eficacia y margen de seguridad (Gilderhus and Marking, 1987; Gilderhus, 1989, 1990). Se ha demostrado que las concentraciones en las que se usa son de baja toxicidad para el ser humano (Allen, 1988) y que sus residuos en agua pueden ser removidos mediante filtros de carbono activado (Howe et al., 1990).

El shock térmico o hipotermia fue elegido y diseñado a partir de observaciones en temperaturas extremas y actualmente también ha sido estudiado para su aplicación potencial en adultos de salmón del Pacífico (Hovda y Linley, 2000). Además, aventaja a la benzocaína por no dejar residuos.

Cuadro 1

Datos promedio de tres réplicas del tratamiento con benzocaína aplicado a ejemplares de *Odontesthes bonariensis*

Dosis mg/l	Long. Total mm	% Inducido	Tiempos		Mortalidad %	
			Inducción	Recuperación		
			Min	Seg		
5 - 20	20 - 30	0	-	-	0	
25	20 - 30	20	4 : 40	1 : 00	0	
30	20 - 30	20	4 : 10	1 : 20	30	
35	20 - 30	30	4 : 00	1 : 50	20	
40	20 - 30	40	2 : 50	2 : 45	30	
	30 - 40	20	3 : 45	2 : 30	20	
45	20 - 30	100	2 : 00	1 : 50	10	
	30 - 40	100	4 : 30	1 : 30	10	
	120 -150	0	-	-	0	
45 - 65	120 -150	0	-	-	0	
70	120 -150	20	5 : 50	4 : 10	30	
75	120 -150	40	3 : 50	2 : 15	10	
80	120 -150	100	2 : 20	0 : 45	0	



MATERIAL Y METODOS

Se utilizaron ejemplares de pejerrey nacidos en el laboratorio de acuicultura del Instituto Tecnológico de Chascomús (Intech). Fueron alimentados con *Artemia* sp. durante los primeros 15 días de vida, luego con cultivos de zooplancton hasta los 60 y posteriormente, con una dieta combinada de zooplancton y balanceado en pasta. Este producto se manufacturó a base de harinas de pescado y carne, con agregado de minerales y vitaminas.

Los peces se mantuvieron en dos sistemas cerrados de peceras con recirculación de agua potable de red, previamente envejecida. Cada uno comprendió 12 acuarios de 50 l, un filtro de goteo de 500 l, un sedimentador de 150 l y un tanque receptor de 150 l con una bomba centrífuga de ½ HP de potencia (Reartes *et al.*, 1989). Los dos sistemas se instalaron en un mismo ambiente. La temperatura del agua se mantuvo en $25^{\circ}\text{C} \pm 1$ y la conductividad en $2,2 \text{ uS/cm} \pm 0,3$ (Hach, Conductivity/TDS Meter Modelo 44600). Los peces utilizados en los ensayos abarcaron tres intervalos de longitud total: 20-30, 30-40 y 120-150 mm. El número de peces por intervalo y por pecera fue 10 individuos, con 3 réplicas para cada ensayo. Para cada tratamiento se utilizaron los mismos lotes de peces. En cada experiencia se controló su recuperación durante una semana, a cuyo término los que manifestaron comportamiento anormal fueron descartados y reemplazados por otros de igual tamaño.

Se disolvieron en agua de acuario 5 mg/l de benzocaína, aumentando 5 mg/l en cada ensayo nuevo hasta alcanzar la dosis adecuada para cada intervalo de talla.

Para el MS-222 se partió de la dosis adecuada para benzocaína, aumentado igualmente 5 mg/l hasta el óptimo en cada intervalo. Para el shock térmico se utilizó hielo para enfriar el agua, midiendo la reacción de los peces al cambio brusco de temperatura. Esta disminuyó 5°C en cada experiencia hasta encontrar la adecuada.

Los criterios utilizados para la comparación de los tres métodos fueron: baja mortalidad durante y después del tratamiento, seguridad para el consumo humano, disponibilidad a bajo costo y concentración requerida para obtener el efecto tranquilizante. Este se determinó como el cese de locomoción y disminución del ritmo opercular del pez, pero manteniendo una respuesta refleja del individuo a la presión ejercida sobre la aleta caudal. Este estado debe alcanzarse dentro de los cinco minutos posteriores al comienzo del tratamiento y su recuperación debe producirse dentro de los quince minutos posteriores a la introducción en el agua de origen (Booke *et al.*, 1978).

RESULTADOS

Los primeros síntomas de anestesia usando benzocaína se observaron con una concentración de 25 mg/l, en un 20 % de los peces. Con dosis de 30 a 40

Cuadro 2

Datos promedio de tres réplicas del tratamiento con MS-222 aplicado a ejemplares de *Odontesthes bonariensis*.

Dosis mg/l	Long. Total mm	% Inducido	Tiempos		Mortalidad %
			Inducción	Recuperación	
			Min	: Seg	
45 - 60	20 - 30	0	-	-	30
65	20 - 30	20	4 : 20	1 : 20	30
70	20 - 30	60	3 : 30	2 : 50	50
	30 - 40	50	4 : 00	3 : 20	50
75	20 - 30	100	4 : 30	1 : 00	50
	30 - 40	100	4 : 50	1 : 20	40
	120 - 150	60	4 : 10	2 : 30	40
80	120 - 150	100	3 : 30	0 : 50	30



mg/l se registraron reacciones muy dispares. Los mejores resultados (100 % de los peces) se obtuvieron con una dosis mínima de 45 mg/l al cabo de 1 a 3 minutos de exposición al anestésico, para los dos intervalos de talla menores. Para los peces comprendidos en el intervalo de talla mayor, la dosis mínima requerida para anestesiarnos fue de 80 mg/l con 1 a 3 minutos de inducción. En este tratamiento la mortalidad inmediata y diferida fue relativamente baja llegando a un 20% \pm 10. El lote final de las experiencias con benzocaína fue controlado durante 3 meses y no se registraron en ese lapso muertes atribuibles al tratamiento (Cuadro 1).

Para el tratamiento con MS-222 se tomó como punto de partida una concentración de 45 mg/l que fue la que se manifestó como eficiente para la benzocaína. La dosis mínima efectiva fue de 75 mg/l con 4 minutos de inducción para las tallas menores y de 80 mg/l y 3'30" para las mayores. La mortalidad inmediata y diferida alcanzó un 40% \pm 10 (Cuadro 2).

En el caso del shock térmico se comenzó con un cambio brusco de temperatura de 5° C, con resultados dispares hasta llegar a una amplitud de 20° C que demostró ser efectiva para las tallas menores y una de 22° C para las mayores, con tiempos de inducción menores a 4 minutos (Cuadro 3). El contacto directo de los peces con el hielo causó severos trastornos, muchas veces seguidos de muerte, en todas las tallas. Esta situación se solucionó retirando el hielo del recipiente y no se observó mortalidad inmediata o diferida como consecuencia del shock térmico.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

El empleo del shock térmico como anestésico en pejerrey aparece como una metodología de bajo costo, fácil aplicación y sin efectos posteriores al tratamiento, frente a la utilización de productos químicos con un costo comercial mayor y efectos residuales inciertos. De todas maneras, no sería aconsejable su uso para todas las tallas que requieren manejo de esta especie. Se comprobó que para pesar, medir, inyectar y transportar ejemplares a corta distancia es altamente satisfactorio pero, en otras circunstancias se necesitan nuevas experiencias de comparación. Los datos obtenidos indicarían una mayor sensibilidad del pejerrey, con respecto a la benzocaína, si los comparamos con especies neotropicales como *Pimelodus clariss maculatus* y *Prochilodus lineatus* (Parma de Croux, 1990; Parma de Croux y Montagna, 1998).

Por todo lo expuesto, queda descartado por su toxicidad y elevado costo el uso del MS-222 como anestésico.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Horacio Zagarese por la revisión crítica del manuscrito y al PNUD 86/028 por la financiación.

Cuadro 3

Datos promedio de tres réplicas del tratamiento con shock térmico aplicado a ejemplares de *Odontesthes bonariensis*

Cambio en °C	Long. Total mm	% Inducido	Tiempos		Mortalidad %
			Inducción	Recuperación	
			Min : Seg		
5	20 - 30	20	> 5 : 00	1 : 00	0
	30 - 40	10	> 5 : 00	1 : 00	0
10	20 - 30	20	5 : 00	1 : 40	0
	30 - 40	20	5 : 00	1 : 20	0
15	20 - 30	40	3 : 50	2 : 20	0
	30 - 40	30	4 : 20	2 : 00	0
	120 -150	10	4 : 50	1 : 45	0
20	20 - 30	100	2 : 30	3 : 30	0
	30 - 40	100	2 : 50	3 : 10	0
	120 -150	70	4 : 00	2 : 45	0
22	120 -150	100	3 : 30	3 : 00	0



REFERENCIAS

- Allen, J. L. 1988. Residues of benzocaine in rainbow trout, largemouth bass, and fish meal. *Prog. Fish. Cult.* 50: 59-60.
- Booke, H., B. Hollender y G. Lutterbie. 1978. Sodium bicarbonate, an inexpensive fish anesthetic. *Prog. Fish. Cult.* 40 (1):11-13.
- Ferreira, J., G. L. Smith, H. J. Schoonbee y C. W. Holzapfel. 1979. Comparisson of anesthetic potency of benzocaine hydrochloride and MS-222 in two freshwater fish species. *Prog. Fish. Cult.* 41 (3): 161-163.
- Gilderhus, P. A. 1989. Efficacy of benzocaine as an anesthetic for salmonid fish. *North Am. J. Fish. Manag.* 9: 150-153.
- Gilderhus, P. A. 1990. Benzocaine as a fish anesthetic; efficacy and safety for spawning-phase salmon. *Prog. Fish. Cult.* 52: 189-191.
- Gilderhus, P. A. y L. L. Marking. 1987. Comparative efficacy of 16 anesthetic chemical on Rainbow trout. *North Am. J. Fish. Manag.* 7: 288-292.
- Gomes, L. C., A. R. Chippari-Gomes, N. P. Lopes, R. Roubach and C. A. R. M. Araujo Lima. 2001. Efficacy of Benzocaine as an anesthetic in juvenile Tambaqui *Colossoma macropomum*. *J. World Aquac. Soc.* 32: 426-431.
- Hovda, J. y J. Linley. 2000. The potential application of hypothermia for anesthesia in adult pacific salmon. *North Am. J. Aquac.* 62: 67-72.
- Howe, G. E., T. D. Bills, and L. L. Marking. 1990. Removal of benzocaine from water by filtration with activated carbon. *Prog. Fish. Cult.* 52: 32-35.
- Jhingram, V. G. and R. S. V. Pullin. 1988. A hatchery manual for the common chinese and indian major carp. *IRCLAM Stud. Rev.* 11, 191 pp.
- Laidley, C. W. and J. F. Leatherland. 1989. Cohort sampling, anesthesia and stocking-density effects on plasma cortisol, thyroid hormone, metabolite and ion levels in rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson. *J. Fish Biol.* 33: 73-88.
- Marking, L. L. 1967. Toxicity of MS 222 to selected fishes. *U. S. Fish Wildl. Serv. Invest. Fish Control* 10. Resource Published 18, 10 pp.
- Molinero, A. y J. González. 1995. Comparative effects of MS-222 and 2-phenoxyethanol on gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) during confinement. *Compar. Biochem. Physiol.* 111A: 405-414.
- Parma de Croux, M. J. 1990. Benzocaine (Ethyl-p-Aminobenzoate) as an anaesthetic for *Prochilodus lineatus*, Valenciennes (Pisces, Curimatidae). *J. Appl. Ichthyol.* 6: 189-192.
- Parma de Croux, M. J. 1998. Efficacy of benzocaine as an anesthetic for juveniles *Pimelodus clarias maculatus* (Pisces, Pimelodidae). *Iheringia, Sér. Zool.* 84: 29-32.
- Reartes J. L. 1995. El Pejerrey (*Odonthestes bonariensis*): Métodos de cría y cultivo masivo. *Copescal Documento Ocasional* 9. FAO. 35 p.
- Reartes J. L., R. U. Escaray y J. F. Bustingorry. 1989. Cría de alevinos y juveniles de pejerrey en un sistema cerrado utilizando diversos tipos de alimento. *Tercera Reunión Argentina de Acuicultura*. Ushuaia. 16p.
- Ringuelet, R. 1948. Piscicultura del pejerrey o aterinicultura. *Agro*. Edit. Suelo Argentino. Buenos Aires (6) 162 p.
- Ross, L. G. and B. Ross. 1999. Anaesthetic and sedative techniques for aquatic animals. *Blackwell Science*. Oxford, UK, 176 pp.
- Thomas, P. y L. Robertson. 1991. Plasma cortisol and glucose stress responses of red drum (*Sciaenops ocellatus*) to handling and shallow water stressors and anesthesia with MS-222, quinaldine sulfate and metomidate. *Aquaculture* 96: 69-86.
- Toda K., N. Tonami, N. Yasuda y S. Suzuki. 1998. Cultivo de pejerrey en Japón. *Asoc. Argentino Japonesa Pejerrey*, 69 p.

Recibido /Received /: 24 noviembre 2003

Aceptado /Accepted /: 11 noviembre 2004