

A. Bilbao, M.P.Viera, G. Courtois de Vicose, J.Roo, H. Fernández-Palacios y M. Izquierdo

Grupo de Investigación en Acuicultura (Instituto Canario de Ciencias Marinas - Universidad de Las Palmas de Gran Canaria).

Apdo. 56, 35200 Telde - Gran Canaria • e-mail: abilbao@iccm.rcanaria.es



## Abstract

### Effect of three anaesthetics on *Haliotis tuberculata coccinea* (Gastropoda) and the clove oil suitability for application in commercial abalone culture.

Three chemical methods for induction of relaxation in *H. tuberculata coccinea* (50-80mm shell length) were tested: sodium pentobarbital (60mg/l), 2-phenoxyethanol (2ml/l) and clove oil at three concentrations (0.02, 0.05 and 0.5ml/l). The time taken for animals to release from aquaria walls and recover from the anaesthetics was recorded. No mortality was observed after one week from experiment. All anaesthetics made animals release from container walls within 10-30 min, but they were ineffective as muscle relaxants, leaving the foot hard and contracted. The most effective concentration tested for clove oil was 0.5ml/l at 22°C.

## Introducción

En las tareas rutinarias del cultivo de oreja de mar, *Haliotis sp.*, es necesario desprender los animales de los sustratos a los que están adheridos fuertemente (Figura 1). Manipularlos mediante mecanismos mecánicos (uso de paletas) ocasiona frecuentemente heridas en el músculo del pie, ocasionando muchas veces la muerte de los animales. Esto es debido a una baja capacidad de cicatrización; a la ausencia de un mecanismo de coagulación de la sangre y al incremento de la probabilidad de infecciones bacterianas y estrés (Armstrong *et al.*, 1971). Sin embargo, el uso de anestésicos, como el 2-fenoxietanol, relajan el músculo del pie y propician el desprendimiento de los animales por sí mismos (Fig.2) (White *et al.*, 1996). La utilización de anestésicos también es fundamental en el cultivo de perlas de abalón, cuya función sería deponer el músculo del pie blando durante al menos 10 minutos con el fin de acceder al lugar de implantación de núcleos de perlas (Fig. 3) (Aquilina y Roberts, 2000). Estos autores recomiendan el uso de sodio pentobarbital para inducir la relajación en *H. iris*.

El aceite de clavo se considera adecuado tanto como anestésico en el transporte de alevines como en tareas rutinarias de cultivo de peces (Wagner *et al.*, 2002; Hoskonen y Pirhonen, 2004). Norton y colaboradores (1996), comprobaron su potencial como sedante en tareas de injertos de perlas en *Pinctada albina*, sin embargo, hasta la fecha, no se han realizado experiencias referidas al abalón.

En el presente estudio se estudió la aplicabilidad del aceite de clavo en el cultivo de *H. tuberculata coccinea*, comparando los resultados obtenidos con dos anestésicos comúnmente utilizados, el sodio pentobarbital y el 2-fenoxietanol.



Fig 1. Ejemplares adheridos a los refugios



Fig 2. Animal desprendido (refugio izquierdo)

## Material y Métodos



Fig 3 y 4. Perlas de oreja de mar



Ejemplares acondicionados en el ICCM, etiquetados individualmente (10/tratamiento; 50-80mm), fueron seleccionados para evaluar el sodio pentobarbital, 2-fenoxietanol y aceite de clavo, este último a tres concentraciones diferentes (Tabla I).

Los animales se introdujeron en cubetas transparentes de 2 l sin aireación y a temperatura ambiente (22°C). Se coloraron dos refugios en cada cubeta y una vez los animales se adhirieron a las paredes de las cubetas y/o refugios, se cambió el agua con el anestésico diluido previamente. Se midió el pH antes y después de añadir el anestésico. El tiempo en el que los animales se desprendieron de las paredes y/o refugios se denominó **tiempo de sedación** (Fig. 2).

Una vez desprendidos, los animales se trasladaron a otra cubeta con agua fresca y el **tiempo de recuperación** se consideró aquel en el que los animales se volvieron a adherir a las paredes y/o refugios. Se anotó el grado de relajación muscular y la mortalidad a las 24, 48 horas y una semana.

Tabla I. Compuestos químicos y concentraciones utilizados como relajantes musculares para *H. tuberculata coccinea*

Compuesto	Concentración
sodio pentobarbital	60 mg/l
2-fenoxietanol	2 ml/l
aceite de clavo <sup>a</sup>	0.02 ml/l
aceite de clavo <sup>a</sup>	0.05 ml/l
aceite de clavo <sup>a</sup>	0.5 ml/l

<sup>a</sup> Diluido en alcohol de 96° al 50%

## Resultados y discusión

Tabla II. Tiempos de sedación y recuperación, grado de relajación muscular y supervivencia de *H. tuberculata coccinea* para los diferentes tratamientos ensayados. (n=10)

Compuesto	sodio pentobarbital (60mg/l)	2-fenoxietanol (2ml/l)	aceite de clavo (0.02ml/l)	aceite de clavo (0.05ml/l)	aceite de clavo (0.5ml/l)
Porcentaje de animales anestesiados	100	100	0	90	100
Tiempo de sedación (min) del 50% <sup>a</sup>	18	9	-	21	12
Tiempo de sedación (min) del 100% <sup>a</sup>	29	11	-	31	28
Tiempo de sedación (min) <sup>b</sup>	19 ± 5,6	9,3 ± 1,5	-	21,5 ± 5,1	15,3 ± 10,4
Condición del músculo	En la mayoría de los animales duro y contraído	Duro, contraído	-	Duro, contraído	En la mayoría de los animales duro y contraído
Tiempo de recuperación (min) <sup>b</sup>	92,1 ± 1,6	30,2 ± 16,8	-	4,5 ± 2,7	18,2 ± 17,6
Supervivencia 1 semana (%)	100	100	100	100	100

<sup>a</sup> Calculado a partir de la línea de tendencia que resulta de la gráfica del porcentaje del 50% y 100% de animales que se relajan respecto al tiempo en minutos

<sup>b</sup> Media ± desviación estándar

El principio activo del aceite de clavo como sedante es el eugenol (Hoskonen y Pirhonen, 2004). A una concentración de 0.5ml/l de aceite de clavo, se obtuvo la sedación del 100% de individuos en 15,3 ± 10,4 min sin mortalidad. Comparando este resultado con el obtenido en el presente estudio con 2-fenoxietanol, (9,3 ± 1,5min.) y el encontrado por White *et al.*, (1996) a la misma concentración, para un rango de talla similar de *H. midae* (2,9 ± 2,3 min.), se observa que, si bien la media del tiempo de sedación es mayor con aceite de clavo, los animales se duermen con mayor dispersión respecto al tiempo. Consideramos que este hecho es una ventaja a la hora de realizar muestreos, puesto que los animales se desprenderían paulatinamente. Sin embargo, en las tareas de cosecha de animales, la utilización de 2-fenoxietanol sería más adecuada.

Con ningún tratamiento se obtuvo resultados satisfactorios respecto a la textura del músculo del pie requerida para las tareas de implantación de núcleos de perlas (Tabla II). El tiempo de sedación con sodio pentobarbital del 50% (18 min.) se asemeja a los datos publicados para *H. iris* (12 min.) (Aquilina y Roberts, 2000; Sharma *et al.*, 2003). Sin embargo, el músculo no llegó a ablandarse completamente, pudiendo deberse a que los animales no se durmieran totalmente. Experiencias futuras aumentando la concentración y/o el tiempo de exposición al compuesto, podrían dar lugar a un cambio de textura del músculo del pie. En el caso del aceite de clavo, a una concentración de 0.5ml/l, el tiempo de sedación es similar a los valores obtenidos por Aquilina y Roberts (2000) (15min.) a 22.5°C. Sin embargo, tampoco se obtuvo la textura adecuada del músculo del pie para retirar el manto adherido a la concha y poder acceder al lugar de implantación de núcleos de perlas. En parte esto puede ser debido a la utilización del alcohol para diluir el aceite de clavo en el agua de mar, como observaron Aquilina y Roberts (2000) en la utilización del anestésico benzocaína en *H. iris*. El pH no varió en ningún tratamiento y se mantuvo alrededor de 8 (Tabla I).

## Conclusiones

El aceite de clavo a una concentración de 0.5ml/l (diluido al 50% en alcohol de 96°) es efectivo para anestésiar ejemplares entre 50 y 77mm en longitud de concha de *H. tuberculata coccinea*. Este compuesto puede utilizarse en tareas rutinarias del cultivo de abalón. Sin embargo, futuras experiencias mezclando el aceite de clavo en un volumen pequeño de agua de mar (sin disolverlo en alcohol) serán necesarias para observar su efectividad en las tareas de cultivo de perlas.

## Agradecimientos

Este trabajo se ha llevado a cabo en el marco del proyecto JACUMAR (Oreja de mar) y ha sido parcialmente financiado por el FEDER dentro del Programa INTERREG IIIB.

