



**UNIVERSIDAD MICHOACANA DE
SAN NICOLÁS DE HIDALGO**

**INSTITUTO DE INVESTIGACIONES
SOBRE LOS RECURSOS NATURALES**

MAESTRÍA EN CIENCIAS EN LIMNOLOGÍA Y ACUICULTURA

**EL USO DE BENZOCAÍNA E HIPOTERMIA COMO SEDANTES
PARA EL TRANSPORTE DE JUVENILES DE PEZ BLANCO,
Chirostoma estor estor, JORDAN 1879.**

Tesis de Grado que presenta

JUDITH SÁNCHEZ BLANCO

**COMO REQUISITO PARA OPTAR AL GRADO DE
MAESTRA EN CIENCIAS EN LIMNOLOGÍA Y ACUICULTURA**

DIRECTOR: DR. CARLOS A. MARTÍNEZ PALACIOS

CO-DIRECTOR: DR. LINDSAY G. ROSS

MORELIA, MICHOACÁN, MÉXICO. FEBRERO 2006



AGRADECIMIENTOS

Agradezco a la UMSNH por haber forjado mi futuro como profesionista y como persona, al brindarme la oportunidad de realizar mis estudios de educación media y superior.

También a cada una de las personas que de una u otra manera brindaron su apoyo durante esta etapa de mi vida, lo que me permitió culminar la presente:

Al Dr. Gerardo Sánchez Díaz, M. en C. María Alma Chávez Carvajal y Dra. Guadalupe Chávez Carvajal por ser excelentes seres humanos.

A la Comisión Estatal de Derechos Humanos (3ª Visitaduría). A la beca (912701) otorgada por la Coordinación General de Estudios de Posgrado de la UMSNH y la beca del proyecto SAGARPA-2002-C01-261 “Desarrollo de las bases técnicas y científicas para el pez blanco de Chapala (*Chirostoma promelas*) y pátzcuaro (*Chirostoma estor*) marzo-agosto del 2004.

Dr. Carlos A. Martínez Palacios y Dr. Lindsay G. Ross por acogerme en el Laboratorio de Acuicultura, así como el invaluable esfuerzo y dedicación en la dirección del presente proyecto, lo que permitió mi desarrollo en esta área.

A mi Comité Tutorial Dr. Illie Raccotta Dimitrov, Dra. Elva Mayra Toledo Cuevas y Dr. Alejandro Martínez Palacios; el tiempo dedicado a la revisión del manuscrito así como sus importantes aportaciones y atinadas sugerencias.

Al M. en C. Germán A. Bojórquez Bojórquez de la Universidad Autónoma de Sinaloa, UAS por acogerme en el seno de su familia y compartir sus conocimientos.

M.I.A. Evelia Santillan Ferreira por su invaluable amistad, consejos, respaldo y calidad humana durante mi estancia en el Instituto, así como su apoyo logístico y uso del equipo de computo.

M. en C. Javier Ponce Saavedra por su invaluable disponibilidad para atender y ayudar en el procesamiento de los datos estadísticos.

Dr. Medardo Serna González, Dr. Cuauhtémoc Sáenz Romero, Dr. Otoniel Buenrostro Delgado y Contador Pedro por sus atenciones. Dr. Miguel Martínez Trujillo, Dr. Raymundo Barbosa y Dr. Carlos Tena Morelos.

A Leticia Colín, Luis Enrique Martínez C. por su apoyo y amistad, así como al Sr. Alberto.

A Ruby Isela Méndez y Gilberto Silva Juárez por su apoyo en la encuadernación de la tesis y amistad.

A mis compañeros del posgrado Marú, Lázaro y Rafael. Y los del Laboratorio de Acuicultura: Tzitziqui, Carmen, Lidia, Gisela, Alejandra, Eduardo, Juan, Toña, Liz, Pamela, Victor, Dafne, Carlos, Odín, Orlando, “El oso” y Erika.

Por su amistad a Toño Campos Mendoza e Ivonne García Miranda y por compartir su casa durante la estancia en Stirling.

Biól. Jesús López García por su apoyo y compañía invaluable durante los experimentos de transporte y el último de oxígeno.

A Dra. Rosaura Luna Reyes (Lab. de Ecología Genética), al Dr. Francisco J. García Espinosa (Lab. de Ecología Química) y Lucía Martínez del Centro de Investigaciones en Ecosistemas UNAM, por permitirme consultar la base electrónica de revistas (red UNAM).

Con respeto a Joel A. López García y Leonardo Morales Navarro por su amistad.

“Entre los individuos como entre las naciones el respeto al derecho ajeno es la paz”
(Benito Juárez G.)

DEDICATORIA

A quienes son la base de mis logros, los pilares de mi vida...

A quien guiando mis primeros pasos labrando con ello mi destino, al enseñarme que el mejor camino nunca es el más fácil pero sí el más satisfactorio, a quien le debo la vida misma.....

A mi máma:

CLARA BLANCO GUZMÁN

A quienes han crecido conmigo, con quienes he compartido dichas y sin sabores....

A mis hermanas:

NORA Y CLARA

A quienes nos han brindado la alegría.....

A mis sobrinos

KIMBERLY Y LEONARDO

INDICE

	Páginas
INDICE DE FIGURAS.....	i
INDICE DE TABLAS.....	iv
INDICE DE ANEXOS.....	v
RESUMEN.....	vi
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. ANTECEDENTES.....	4
2.1. Anestésicos utilizados en Acuicultura.....	4
2.1.1. Benzocaína.....	5
2.1.1.1. Toxicidad.....	6
2.1.2. Hipotermia	7
2.2. Transporte de peces.....	8
2.2.1. Control del ambiente.....	11
2.3. <i>Aloe vera</i>	12
2.4. Requerimiento de oxígeno de los organismos acuáticos.....	13
III. OBJETIVOS.....	16
3.1. Objetivo general.....	16
3.2. Objetivos particulares.....	16
IV. HIPÓTESIS.....	16
V. MATERIALES Y MÉTODOS.....	17
5.1. Pruebas de laboratorio.....	17
5.1.1. Organismos experimentales.....	17
5.1.2. Criterio de eficacia.....	17

5.2. Serie experimental.....	19
5.2.1. Experimento 1. Efecto de benzocaína como anestésico.....	19
5.2.2. Experimento 2. Efecto de hipotermia.....	20
5.2.3. Experimento 3. Combinación de benzocaína e hipotermia.....	21
5.2.4. Experimento 4. Beneficios del <i>Aloe vera</i> y transporte por 3:30 horas.....	22
5.2.5. Experimento 5. <i>Aloe vera</i> y transporte por 8:30 horas.....	24
5.2.6. Experimento 6. Transporte de 4,848 juveniles <i>C. estor estor</i> a Ichupio, Tzintzunán, Michoacán.....	24
5.2.7. Experimento 7. Tasa de consumo de oxígeno.....	25
5.2.8. Experimento 8. Tiempo de consumo de oxígeno en bolsas.....	26
5.3. Parámetros evaluados.....	27
5.3.1. Análisis fisicoquímico del agua.....	27
5.3.2. Biometrías de los organismos.....	27
5.4. Tratamiento estadístico.....	27
 VI. RESULTADOS.....	 28
6.1. Benzocaína.....	28
6.2. Hipotermia.....	36
6.3. Benzocaína e hipotermia.....	41
6.4. Transporte por 3:30 horas.....	49
6.5. Transporte por 8:30 horas.....	56
6.6. Tasa de consumo de oxígeno.....	56
6.7. Tiempo de consumo de oxígeno en bolsas.....	58
6.8. Parámetros analizados.....	60
6.8.1. Análisis fisicoquímicos del agua.....	60
6.8.2. Biometrías de los organismos.....	60
 VII. DISCUSIÓN.....	 61
VIII. CONCLUSIONES.....	67
IX. LITERATURA CITADA.....	69

INDICE DE FIGURAS

	Páginas
Figura 1. Estructura química de la benzocaína.....	6
Figura 2. Sistema de recirculación en flujo continuo usado para determinar la tasa de consumo de oxígeno. Las flechas indican la dirección del flujo de agua. (1 y 2 sensor de oxígeno).....	25
Figura 3. Porcentaje de peces afectados en el tiempo por pérdida de sus actividades y signos durante la exposición a 12 mg/L de benzocaína. PMO*= Pérdida de movimiento opercular, PST*= Pérdida de sensibilidad al tacto.....	28
Figura 4. Porcentaje de peces afectados en el tiempo por pérdida de sus actividades y signos durante la exposición a: a) 15 mg/L de benzocaína y b) durante la recuperación en agua a 5‰. PMO*= Pérdida de movimiento opercular, PST*= Pérdida de sensibilidad al tacto.....	29
Figura 5. Porcentaje de peces afectados en el tiempo por pérdida de sus actividades y signos durante la exposición a: a) 18 mg/L de benzocaína y b) durante la recuperación en agua a 5‰. PMO*= Pérdida de movimiento opercular, PST*= Pérdida de sensibilidad al tacto.....	30
Figura 6. Porcentaje de peces afectados en el tiempo por pérdida de sus actividades y signos durante la exposición a: a) 21 mg/L de benzocaína y b) durante la recuperación en agua a 5‰. PMO*= Pérdida de movimiento opercular, PST*= Pérdida de sensibilidad al tacto.....	31
Figura 7. Porcentaje de peces afectados en el tiempo por pérdida de sus actividades y signos durante la exposición a: a) 24 mg/L de benzocaína y b) durante la recuperación en agua a 5‰. PMO*= Pérdida de movimiento opercular, PST*= Pérdida de sensibilidad al tacto.....	32
Figura 8. Porcentaje de peces afectados en el tiempo por pérdida de sus actividades y signos durante la exposición a: a) 27 mg/L de benzocaína y b) durante la recuperación en agua a 5‰. PMO*= Pérdida de movimiento opercular, PST*= Pérdida de sensibilidad al tacto.....	33
Figura 9. Porcentaje de peces afectados en el tiempo por pérdida de sus actividades y signos durante la exposición a: a) 30 mg/L de benzocaína y b) durante la recuperación en agua a 5‰. PMO*= Pérdida de movimiento opercular, PST*= Pérdida de sensibilidad al tacto.....	34
Figura 10. Porcentaje de peces afectados en el tiempo por pérdida de sus actividades y signos durante la exposición a: a) 40 mg/L de benzocaína y b) durante la recuperación en agua a 5‰. PMO*= Pérdida de movimiento opercular, PST*= Pérdida de sensibilidad al tacto.....	35
Figura 11. Porcentaje de peces afectados en el tiempo por pérdida de sus actividades y signos durante la exposición a hipotermia: a) temperatura de 21°C y b) aclimatación en agua a 5‰ a 22.8°C (temperatura ambiente). PMO*= Pérdida de movimiento opercular, PST*= Pérdida de sensibilidad al tacto.....	36
Figura 12. Porcentaje de peces afectados en el tiempo por pérdida de sus actividades y signos durante la exposición a hipotermia: a) temperatura de 18°C y b) aclimatación en	

agua a 5‰ a 22°C (temperatura ambiente). PMO*= Pérdida de movimiento opercular, PST*= Pérdida de sensibilidad al tacto.....37

Figura 13. Porcentaje de peces afectados en el tiempo por pérdida de sus actividades y signos durante la exposición a hipotermia: a) temperatura de 15°C y b) aclimatación en agua a 5‰ a 21°C (temperatura ambiente). PMO*= Pérdida de movimiento opercular, PST*= Pérdida de sensibilidad al tacto.....38

Figura 14. Porcentaje de peces afectados en el tiempo por pérdida de sus actividades y signos durante la exposición a hipotermia: a) temperatura de 12°C y b) aclimatación en agua a 5‰ a 22°C (temperatura ambiente). PMO*= Pérdida de movimiento opercular, PST*= Pérdida de sensibilidad al tacto.....39

Figura 15. Porcentaje de peces afectados en el tiempo por pérdida de sus actividades y signos durante la exposición a hipotermia: a) temperatura de 9°C y b) aclimatación en agua a 5‰ a 22°C (temperatura ambiente). PMO*= Pérdida de movimiento opercular, PST*= Pérdida de sensibilidad al tacto.....40

Figura 16. Porcentaje de peces afectados en el tiempo por pérdida de sus actividades y signos durante la exposición a la combinación de benzocaína e hipotermia: a) 18 mg/L de benzocaína y 12°C; b) aclimatación en agua a 5‰ a 21.5°C, temperatura ambiente. PMO*= Pérdida de movimiento opercular, PST*= Pérdida de sensibilidad al tacto.....41

Figura 17. Porcentaje de peces afectados en el tiempo por pérdida de sus actividades y signos durante la exposición a la combinación de benzocaína e hipotermia: a) 15 mg/L de benzocaína y 12°C; b) aclimatación en agua a 5‰ a 22°C, temperatura ambiente. PMO*= Pérdida de movimiento opercular, PST*= Pérdida de sensibilidad al tacto.....42

Figura 18. Porcentaje de peces afectados en el tiempo por pérdida de sus actividades y signos durante la exposición a la combinación de benzocaína e hipotermia: a) 12 mg/L de benzocaína y 12°C; b) aclimatación en agua a 5‰ a 21°C, temperatura ambiente. PMO*= Pérdida de movimiento opercular, PST*= Pérdida de sensibilidad al tacto.....43

Figura 19. Porcentaje de peces afectados en el tiempo por pérdida de sus actividades y signos durante la exposición a la combinación de benzocaína e hipotermia: a) 9 mg/L de benzocaína y 12°C; b) aclimatación en agua a 5‰ a 22°C, temperatura ambiente. PMO*= Pérdida de movimiento opercular, PST*= Pérdida de sensibilidad al tacto.....44

Figura 20. Porcentaje de peces afectados en el tiempo por pérdida de sus actividades y signos durante la exposición a la combinación de benzocaína e hipotermia: a) 18 mg/L de benzocaína y 15°C; b) aclimatación en agua a 5‰ a 22°C, temperatura ambiente. PMO*= Pérdida de movimiento opercular, PST*= Pérdida de sensibilidad al tacto.....45

Figura 21. Porcentaje de peces afectados en el tiempo por pérdida de sus actividades y signos durante la exposición a la combinación de benzocaína e hipotermia: a) 15 mg/L de benzocaína y 15°C; b) aclimatación en agua a 5‰ a 22.5°C, temperatura ambiente. PMO*= Pérdida de movimiento opercular, PST*= Pérdida de sensibilidad al tacto.....46

Figura 22. Porcentaje de peces afectados en el tiempo por pérdida de sus actividades y signos durante la exposición a la combinación de benzocaína e hipotermia: a) 12 mg/L de

benzocaína y 15°C; b) aclimatación en agua a 5‰ a 23°C, temperatura ambiente. PMO*= Pérdida de movimiento opercular, PST*= Pérdida de sensibilidad al tacto.....47

Figura 23. Porcentaje de peces afectados en el tiempo por pérdida de sus actividades y signos durante la exposición a la combinación de benzocaína e hipotermia: a) 9 mg/L de benzocaína y 15°C; b) aclimatación en agua a 5‰ a 23°C, temperatura ambiente. PMO*= Pérdida de movimiento opercular, PST*= Pérdida de sensibilidad al tacto.....48

Figura 24. Supervivencia de juveniles de *C. estor estor* durante el transporte de 3:30 horas en los diferentes tratamientos: T= Transporte, -T= Sin Transporte, +BH= Benzocaína e hipotermia, -BH= Sin benzocaína e hipotermia, +AV= *A. vera*, -AV= Sin *A. vera*; (los valores son las medias±SE, n=24 réplicas). Las letras iguales de las barras no presentan diferencia significativa ($P>0.05$).....49

Figura 25. Porcentaje de juveniles de *C. estor estor* con movimiento opercular normal del transporte de 3:30 horas en los diferentes tratamientos: T= Transporte, -T= Sin Transporte, +BH= Benzocaína e hipotermia, -BH= Sin benzocaína e hipotermia, +AV= *A. vera*, -AV= Sin *A. vera*; (los valores son las medias±SE, n=24 réplicas). Las letras iguales de las barras no presentan diferencia significativa ($P>0.05$).....50

Figura 26. Porcentaje de juveniles de *C. estor estor* con equilibrio: a) normal y b) pérdida total inmediatamente después (0 minutos postransporte) del transporte de 3:30 horas en los diferentes tratamientos: T= Transporte, -T= Sin Transporte, +BH= Benzocaína e hipotermia, -BH= Sin benzocaína e hipotermia, +AV= *A. vera*, -AV= Sin *A. vera*; (los valores son las medias±SE, n=24 réplicas). Las letras iguales de las barras no presentan diferencia significativa ($P>0.05$).....51

Figura 27. Porcentaje de juveniles de *C. estor estor* con nado: a) normal, b) inseguro y c) pérdida parcial inmediatamente después (0 minutos postransporte) del transporte de 3:30 horas en los diferentes tratamientos: T= Transporte, -T= Sin Transporte, +BH= Benzocaína e hipotermia, -BH= Sin benzocaína e hipotermia, +AV= *A. vera*, -AV= Sin *A. vera*; (los valores son las medias±SE, n=24 réplicas). Las letras iguales de las barras no presentan diferencia significativa ($P>0.05$)...53

Figura 28. Porcentaje de juveniles de *C. estor estor* con sensibilidad al tacto: a) normal y b) pérdida total inmediatamente después (0 minutos postransporte) del transporte de 3:30 horas en los diferentes tratamientos: T= Transporte, -T= Sin Transporte, +BH= Benzocaína e hipotermia, -BH= Sin benzocaína e hipotermia, +AV= *A. vera*, -AV= Sin *A. vera*; (los valores son las medias±SE, n=24 réplicas). Las letras iguales de las barras no presentan diferencia significativa ($P>0.05$)...54

Figura 29. Número de escamas perdidas de juveniles de *C. estor estor* durante el transporte de 3:30 horas en los diferentes tratamientos: T= Transporte, -T= Sin Transporte, +BH= Benzocaína e hipotermia, -BH= Sin benzocaína e hipotermia, +AV= *A. vera*, -AV= Sin *A. vera*; (los valores son las medias±SE, n=24 réplicas). Las letras iguales de las barras no presentan diferencia significativa ($P>0.05$)...55

Figura 30. Número de escamas perdidas de juveniles de *C. estor estor* durante el transporte de 8:30 horas en los diferentes tratamientos: T= Transporte, -T= Sin Transporte, +BH= Benzocaína e hipotermia, -BH= Sin benzocaína e hipotermia, +AV= *A. vera*, -AV= Sin *A. vera*; (los valores son las medias±SE, n=24 réplicas). Las letras iguales de las barras no presentan diferencia significativa ($P>0.05$)...56

Figura 31. Tasa de consumo de oxígeno en reposo, después de 1 y 5 minutos de alimentación postprandial y de haber provocado estrés por manipulación en juveniles de *C. estor estor* (los valores son las medias±SE, n=4 réplicas). Las letras iguales de las barras no presentan diferencia significativa ($P>0.05$).....57

INDICE DE TABLAS

Páginas

Tabla 1. Métodos usados para producir anestesia general o local. Adaptado de Heavner (1981), tomado de Ross y Ross (1999).....	4
Tabla 2. Etapas de anestesia asociadas a niveles de actividad (Chung, 1980); tomado de Hovda y Linley, 2000 modificada con el signo de sensibilidad al tacto de acuerdo a Ross y Ross (1999).....	17
Tabla 3. Etapas de anestesia en peces. Según McFarland (1959); tomado de Ross y Ross (1999).....	18
Tabla 4. Hemorragias en juveniles de <i>C. estor estor</i>	55
Tabla 5. Promedios de tasas de consumo de oxígeno en reposo, después de alimentación postprandial y de haber provocado estrés por manipulación en juveniles de <i>C. estor estor</i>	57
Tabla 6. Cálculo práctico de requerimiento de oxígeno para juveniles de <i>C. esto estor</i> a partir de datos experimentales de respiración después de 1 minuto de estrés por manipulación.....	58
Tabla 7. Datos de oxígeno y supervivencia en juveniles de <i>C. estor estor</i> a las 16 horas de simulación de transporte en el tratamiento con 12 mg/L de benzocaína e hipotermia (15°C) y postransporte (0, 12, 24 y 48 horas).....	59
Tabla 8. Datos de oxígeno y supervivencia de juveniles de <i>C. estor estor</i> a las 16 horas de simulación de transporte a temperatura de 22°C y postransporte (0, 12, 24 y 48 horas) en el tratamiento testigo.....	59
Tabla 9. Datos del análisis fisicoquímico del agua durante el desarrollo de los experimentos (1) Benzocaína, (2) Hipotermia y (3) Combinación de benzocaína e hipotermia.....	60

INDICE DE ANEXOS

Páginas

Anexo 1. Tabla de trabajo con etapas de anestesia asociado con varios niveles de actividad modificado de (Chung 1980 y Ross 1999) para benzocaína.....	74
Anexo 2. Tabla de trabajo con etapas de anestesia asociado con varios niveles de actividad modificado de (Chung 1980 y Ross 1999) para hipotermia y combinación de benzocaína e hipotermia.....	75
Anexo 3. Etapas de anestesia asociado con varios niveles de actividad modificado de (Chung 1980 y Ross 1999) para combinación de benzocaína e hipotermia durante el transporte y postransporte.....	76
Anexo 4. Gráficas que muestran el número de peces (promedio) que en el tiempo presentaron dos niveles de actividad (PP: Pérdida parcial y PT: Pérdida total), alcanzados durante la exposición a benzocaína, hipotermia, benzocaína e hipotermia y recuperación..	78

EL USO DE BENZOCAÍNA E HIPOTERMIA COMO SEDANTES PARA EL
TRANSPORTE DE JUVENILES DE PEZ BLANCO, *Chirostoma estor estor*, Jordan
1879.

RESUMEN:

Se evaluó el efecto del uso de la benzocaína e hipotermia y su combinación como sedantes en juveniles de *C. estor estor*. Se utilizaron once distintas concentraciones de benzocaína: 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21, 24, 27, 30 y 40 mg/L; estableciéndose once tratamientos, con tres réplicas cada uno y su testigo sin anestésico, en agua con una salinidad de 5‰. Se realizaron observaciones en el siguiente periodo de tiempo: 1, 2, 4, 8, 16, 32 y 64 minutos para cada tratamiento. El experimento de hipotermia se inició a la temperatura ambiente del agua ($23.8 \pm 2.8^{\circ}\text{C}$) y posteriormente con reducciones a intervalos de 3°C con la siguiente relación: 21, 18, 15, 12 y 9°C ; estableciéndose en total cinco tratamientos con tres réplicas cada uno y su testigo a temperatura ambiental. Se realizaron observaciones en el siguiente periodo de tiempo: 1, 2, 4, 8, 16, 32, 64, 94 y 120 minutos por tratamiento. Una vez conocidos los óptimos de temperatura y concentración de benzocaína se realizó un tercer experimento con una combinación de benzocaína e hipotermia; se utilizaron las temperaturas de 15°C y 12°C combinadas con cuatro concentraciones de benzocaína 9, 12, 15 y 18 mg/L; estableciéndose ocho tratamientos con tres réplicas. De acuerdo a los resultados obtenidos las dosis de 15 y 18 mg/L de benzocaína y las temperaturas de 15°C y 12°C fueron las más adecuadas para lograr sedación en términos de supervivencia y comportamiento en el nado. La mejor combinación para sedación profunda fue la de 15°C y 12 mg/L de benzocaína, la cual se empleó para el transporte de los organismos. Esto constituyó el cuarto experimento en el que se transportaron peces por un periodo de 3:30 horas en bolsas de plástico con 9 L de agua a una salinidad de 5‰, y, en un quinto experimento, en que los peces se transportaron durante 8:30 horas. Este último para poner a prueba la combinación de las técnicas de sedación y evaluar los beneficios del uso de *Aloe vera*.

La evaluación de las actividades y signos de los peces a los 0 minutos del postransporte mostró diferencias significativas ($P < 0.05$) entre los tratamientos; no se encontraron diferencias significativas ($P > 0.05$) a las 2, 24 y 48 horas postransporte, ni tampoco en la supervivencia y número de escamas perdidas por los peces, ni entre el uso o no del extracto de *A. vera*. Los peces que fueron transportados sin el uso de los anestésicos de los

tratamiento 3 (T-BH+AV) y 4 (T-BH-AV) a los 2 días después 48 horas de postransporte 10% presentaron infección por hongos y murieron.

La técnica de sedación desarrollada para el transporte de juveniles de *C. estor estor* resultó ser muy confiable, como quedó demostrado al ser aplicada para trasladar a 4, 848 peces de Morelia a estanques en Ichupio, Tzintzuntzán, Mich., ya que no se registró mortalidad durante el manejo, transporte y siembra en los sistemas semintensivos de cultivo.

Por otra parte, se midió la tasa de consumo de oxígeno en un sistema de recirculación en flujo continuo en condiciones: a) reposo, b) después 1 y 5 minutos de la alimentación (postprandrial) y c) después 1 y 5 minutos de aplicación de un estímulo estresante por manipulación. Las tasas de consumo de oxígeno en estas condiciones estuvieron fluctuando entre 334.6-742.9 mgO₂·kg⁻¹·h⁻¹. Con base en estos datos se consideró que la mayor tasa de consumo de oxígeno 742.9 mgO₂·kg⁻¹·h⁻¹ que presentaron 20 peces con un peso de 151.3 g después de 1 minuto de estrés por manipulación, se calculó el consumo teórico de oxígeno de 790 mgO₂ para transportar en bolsas de plástico durante 16 horas 10 peces con un peso de 75.65g por bolsa con 9 litros de agua a 5‰ saturada a 6 mg/L de oxígeno.

Palabras claves: Juveniles, *Chirostoma estor estor*, benzocaína, hipotermia, *Aloe vera*, tasa de consumo de oxígeno, transporte.

Sánchez-Blanco, J. 2006. El uso de benzocaína e hipotermia como sedantes para el transporte de juveniles de pez blanco, *Chirostoma estor estor*, Jordan 1879. Tesis de Grado. Maestría en Ciencias en Limnología y Acuicultura. INIRENA-UMSNH. Morelia, Mich., Méx. 83 pp.

I. INTRODUCCIÓN

El pescado blanco *Chirostoma estor estor* es una especie endémica del Lago de Pátzcuaro, Michoacán, perteneciente a la familia Antherinopsidae, el cual presenta similitudes con algunos atherínopsidos marinos al poseer ancestros comunes (Barbour, 1973).

El pez blanco es el recurso pesquero de mayor importancia en el lago, reportándose que unos 2000 pescadores dependen de su pesquería, además de su gran relevancia cultural, biológica y comercial. Sin embargo actualmente su población se encuentra en peligro de extinción debido al gran deterioro de su hábitat, causado por la deforestación de la cuenca, la introducción de especies exóticas y la contaminación orgánica e industrial del lago. Además, por la gran demanda y alto valor comercial que tiene en el mercado de la región, se encuentra sujeto a una fuerte presión pesquera, por lo que se realiza una explotación exhaustiva y poco selectiva que captura peces de todas las tallas, reduciendo en consecuencia notablemente su población.

Diversas investigaciones sobre el pez blanco, como son los estudios sobre sus hábitos alimenticios, comportamiento y reproducción en cautiverio, larvicultura, estructuras de alimentación, condiciones óptimas de salinidad y temperatura, esquemas de alimentación, actividades enzimáticas digestivas; entre otras, han permitido sentar las bases para su cultivo en condiciones controladas y proveer una alternativa para conservar y recuperar la especie (Martínez-Palacios *et al.*, 2005). Entre estos avances resaltan la optimización de los métodos de cultivo, el incremento de la supervivencia de los organismos, desde huevo hasta adulto y el logro de cerrar el ciclo de cultivo del pez blanco en las instalaciones del Laboratorio de Acuicultura del INIRENA–UMSNH. Todo esto permite ahora su cultivo comercial y su transferencia a diferentes comunidades del estado, contribuyendo así a ampliar sus actividades comerciales y de autoconsumo. Sin embargo, la transferencia de la tecnología del cultivo de pez blanco requiere indispensablemente el empleo de técnicas de transporte *ad hoc* para la especie, puesto que se trata de un organismo sumamente estresable que presenta altas mortalidades como resultado de esta característica.

Los anestésicos son ampliamente usados en acuicultura para ayudar al manejo de los animales, ya que minimizan la respuesta al estrés y previenen sus impactos negativos (Wagner *et al.*, 2002), como la inmunodepresión, que facilita infecciones subsecuentes

(Ortuño y Messeger, 2002; Davis y Griffin, 2004) e incrementa la susceptibilidad a enfermedades, la reducción en la calidad del huevo y del esperma y la afectación en el crecimiento (Pickering, 1993; Davis y Griffin, 2004).

Diferentes anestésicos químicos (Munday y Wilson, 1997; Ross y Ross, 1999; Ortuño y Meseguer, 2002; Pirhonen y Schreck, 2003) así como el empleo de hipotermia, sola o combinada con anestésicos químicos (Rodman, 1963; Ross y Ross, 1999; Hovda y Linley, 2000), han sido utilizados para anestesiar peces vivos con la finalidad de ayudar en las operaciones de captura, manejo, control y transporte. Adicionalmente los anestésicos son usados en campo o laboratorio para inmovilizar peces en diversos procedimientos como: medir, marcar, pesar, desovar, sexar, tratamientos de enfermedades o parásitos, vacunar, capturar, observación en experimentos de monitoreo en el campo (Munday y Wilson, 1997; Iversen *et al.*, 2003; Hovda y Linley, 2000) o incluso provocar la muerte por sobredosis.

El transporte es considerado un procedimiento traumático que expone a los peces a una serie de estímulos adversos de estrés que pueden causar reacciones fisiológicas que afectan funciones esenciales para la vida (Schreck *et al.*, 1995; Erikson *et al.*, 1997). Entre los agentes estresantes que se presentan durante el transporte se encuentra la manipulación, el uso de la red para capturarlos, el embarque a altas densidades, la descarga, el inadecuado intercambio de agua y la mala calidad del agua. El transporte a altas densidades causa abrasión mecánica debido al contacto entre los peces y el contenedor (Ross y Ross, 1999; Davis y Griffin, 2004). La calidad del agua en estos sistemas cerrados también causa estrés y por lo tanto es un factor limitante que compromete la supervivencia durante y posterior al transporte (Sampson y Macintosh, 1986; Ross y Ross, 1999). El estrés daña la eficacia de los tratamientos con anestésicos al reducir la hipoventilación, incrementar el metabolismo anaeróbico y prolongar el tiempo de recuperación de los peces (Bernier y Randall, 1998; Ross y Ross, 1999).

La necesidad de manejar y transportar peces vivos para su comercialización y dentro de la industria del cultivo ha requerido del desarrollo de técnicas adecuadas de anestesia que ofrezcan un manejo óptimo de los organismos sin deteriorar su salud o su valor comercial (Pirhonen y Scheck, 2003), reduciendo además la mortalidad durante el transporte (Bernier y Randall, 1998). Así, el transporte de peces vivos en bolsas de polietileno cerradas con agua, oxígeno y con anestésicos de diferente origen es común en la acuicultura (Ross y

Ross, 1999, Sampson y Macintosh, 1986). Sin embargo, se ha observado variación entre especies y en los estadios de vida a la reacción del tipo y concentración de anestésico utilizado durante el transporte (Ross y Ross, 1999; Celada *et al.*, 2000). Al seleccionar un anestésico en particular se debe de considerar la conveniencia de su uso, la seguridad para los peces, usuarios y el ambiente, eficacia, perturbaciones fisiológicas y su costo (Ross y Ross, 1999; Pirhonen y Schreck, 2003). Sin embargo, aunque existe una amplia gama de anestésicos químicos, son pocos los que están disponibles, seguros, regulados y económicamente accesibles (Bernier y Randall, 1998). Además, todas las técnicas de anestesia y agentes sedantes tienen limitaciones en su eficacia para un particular propósito, pueden dificultar la anestesia o sedación (Hagen, 2003).

C. estor estor es una especie muy susceptible a la manipulación y al transporte, presentando altas mortalidades en adultos y juveniles durante y después del transporte (Solórzano, 1963; Rosas-Moreno, 1970). Considerando este problema, el propósito del presente estudio fue evaluar los efectos sedativos individuales y combinados de la benzocaína y la hipotermia así como el efecto protector del *Aloe vera*. Además, resultó también necesario evaluar la tasa de consumo de oxígeno de juveniles de *C. estor estor* en agua a 5‰ de salinidad; todo esto con la finalidad de desarrollar una técnica eficiente para el manejo de esta especie durante el transporte, que asegure la supervivencia y salud de los peces durante y después del evento.

II. ANTECEDENTES

2.1. Anestésicos utilizados en Acuicultura

El uso de anestésicos es una herramienta empleada en la acuicultura para minimizar los efectos negativos del estrés y los daños físicos producidos durante el manejo, control y transporte de los peces, pero también puede producir efectos negativos que incluso pueden causar la muerte, dependiendo del anestésico y de su concentración. Sin embargo, en general son mayores las ventajas que las desventajas cuando los anestésico se utilizan a la concentración adecuada (Ross y Ross, 1999).

Se conocen diferentes métodos para inducir anestesia general o local (Tabla 1).

Tabla 1. Métodos usados para producir anestesia general o local. Adaptado de Heavner (1981), tomado de Ross y Ross (1999).

Métodos	Técnicas
Físicos	Hipotermia
	Estimulación eléctrica
	Acupuntura
	Presión
Químicos	Inhalación
	Paretal: Intravenoso, Intraperitoneal e Intramuscular
	Oral
	Rectal
Psicológicos	Sugestión /distracción
	Hipnosis

Entre los anestésicos químicos utilizados en la acuicultura se encuentra el: MS222, benzocaína, benzoak®, aceite de clavo, CO₂, quinaldina, xilocaína, KCL, MgCl₂, 2-fenoxietanol, cloroformo, sulfato de quinaldina, tricaina, Aquí-S® (50% isoeugenol y otros ingredientes), Aquí-S™, metomidate, etc., (Ross y Ross, 1999). No obstante existen una serie de factores biológicos y ambientales, que pueden afectar la eficacia de los anestésicos (Ross y Ross, 1999), los que se citan a continuación:

Factores biológicos: especie (en relación con el área branquial), tamaño y peso (relacionados con la tasa metabólica), contenido de lípidos, sexo y madurez sexual, condición del cuerpo, estatus de enfermedad y variación genética.

Factores ambientales: como la temperatura, pH (ionización de moléculas), salinidad (capacidad de buffer) y contenido de minerales en el ambiente (importante antagonismo con el calcio).

Para el presente estudio se emplearon las técnicas de inhalación de benzocaína como anestésico químico; la técnica de hipotermia como anestésico físico, la combinación de ambas técnicas y la utilización *Aloe vera*.

La técnica de inhalación es la más ampliamente utilizada para peces, el anestésico se aplica en solución acuosa y por ventilación (inhalación), ingresa por la cavidad bucal a las branquias, donde rápidamente entra a la sangre arterial, siendo ésta una vía muy corta hacia el sistema nervioso central. Cuando los peces son retirados del anestésico sus metabolitos son excretados vía branquias y en menor proporción a través de la piel y algunos otros materiales intactos o como metabolitos pueden ser excretados vía riñón (Ross y Ross, 1999).

2.1.1. Benzocaína

Es un anestésico local tipo ester, de color blanco cristalino, de rápida inducción y tiempo de recuperación, muy similar al MS222 (a diferencia de este no tiene el grupo sulfonil) y es efectivo en aproximadamente las mismas dosis. Sin embargo, es 250 veces menos soluble en agua (solamente 0.04% p/v), por lo que se utiliza acetona, etanol o glicol propileno (actúan como dispersantes) como solventes. Las soluciones de benzocaína (100g/L en etanol u otros solventes) requieren almacenarse en frascos color ámbar conservándose así por periodos largos de mínimo un año. Es neutro en solución por lo que es menos hiperactivo y causa menor respuesta de estrés que el MS222. Su eficiencia y solubilidad no es afectada por la dureza del agua ni el pH. En altas temperaturas incrementa su solubilidad; de 409 mg/L (a 5°C) a 1,118 mg/L a 30°C (Allen *et al.*, 1994). Actúa sistemáticamente bloqueando los canales de Na⁺ en la neurona, lo que reduce la transmisión del potencial de acción (Carmichael, 1985).

La benzocaína es el anestésico químico más comúnmente utilizado en el manejo de peces, por su gran eficiencia cuando es aplicado por exposición en baños, por la rápida recuperación de los organismos y por ser inofensivo para el hombre, pero el margen de eficiencia se reduce en altas temperaturas. Las concentraciones optimas comúnmente usadas, en intervalos de 20-100 mg/L, varían con el tamaño del organismo, la especie y la

temperatura (Meinertz *et al.*, 1991; Canfield *et al.*, 1994; Hiney *et al.*, 1995; Hayton *et al.*, 1996; Munday y Wilson, 1997; Ross y Ross, 1999; Meinertz *et al.*, 1999; Ortuño *et al.*, 2002; Hagen, 2003; Iversen *et al.*, 2003; Marquez de Miranda *et al.*, 2003; Sørum y Damsgård, 2004).

Su utilización en peces no afecta el crecimiento, capacidad reproductiva (Ross y Ross, 1999) ni el consumo de alimento (Sørum y Damsgård, 2004). Al igual que el MS222 la benzocaína es soluble en grasas lo cual puede prolongar el tiempo de inducción y recuperación en animales viejos y grávidos.

Nombre alternativo: Etil-p-aminobenzonato, ácido 4-aminobenzoico etil ester

Nombre químico: etil-4-aminobenzonato

Fórmula: $C_9H_{11}NO_2$ [$H_2NC_6H_4CO_2C_2H_5$] (Figura 1).

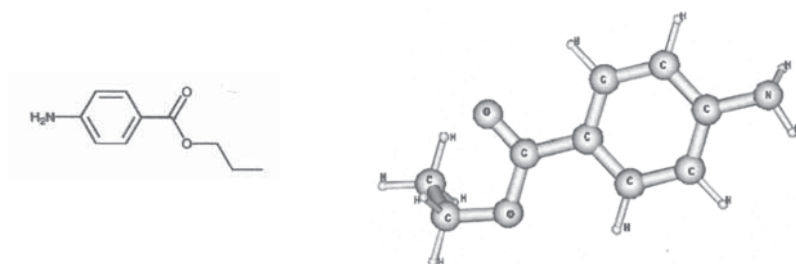


Figura 1. Estructura química de la benzocaína

2.1.1.1. Toxicidad

Debido a el potencial de la benzocaína por su uso en peces destinados al consumo humano, ha sido estudiado en algunas especies de peces su metabolismo, tiempo de persistencia, sus metabolitos y eliminación para evaluar los efectos tóxicos; de esta manera evitar que sea consumida por el hombre; encontrándose en trucha *Oncorhynchus mykiss* (Salmonidae) 3 horas después de administrar ^{14}C -benzocaína HCL de forma intra-arterial, a una dosis de $20.8 \mu g \cdot kg^{-1}$, que el 70% de la dosis fue eliminada vía branquias, orina y bilis, y que la eliminación del 30% restante fue lenta hasta las 24 horas (Meinertz *et al.*, 1991). Estos mismos patrones fueron observados en *Ictalurus punctatus* (Ictaluridae) (Hayton *et al.*, 1996). La distribución de benzocaína y sus metabolitos en *I. punctatus* fue determinada Hayton *et al.* (1996) después de su exposición a 70 y 35 mg/L de ^{14}C -benzocaína, observando bandas de concentración de radioactividad en tejido conectivo, la cual fue eliminada rápidamente, pero los remanentes persistieron con una vida media de 8 días en tejidos y fluidos 3.2 días en bilis. A los 10 días de aplicada la anestesia el orden decreciente de concentración de residuos de ^{14}C -benzocaína fué: bilis, hígado, riñón tronco, riñón

cabeza, piel≈músculo rojo, plasma y músculo blanco. En estas especies los metabolitos de la benzocaína fueron acetilbenzocaína, ácido acetil-p-aminobenzoico y ácido p-aminobenzoico.

Por otro lado, Marques de Miranda *et al.* (2003) evaluaron la genotoxicidad *en vivo* y *in vitro* de distintas concentraciones de benzocaína en eritrocitos de *Oreochromis niloticus* (Cichlidae) expuestos por 10 minutos y su posible interacción *in vitro* con dos mutágenos: el agente alcalino metil metanosulfonato (MMS) y el agente oxidativo peróxido de hidrógeno H₂O₂. Después de 30 minutos, 2, 8, 24 y 48 horas de exposición al anestésico, encontrando que la benzocaína no tiene efecto genotóxico o co-genotóxico, no interactúa con los mutágenos ni daña el DNA, y por lo que su uso es recomendado en estudios donde se utilice sangre. Posteriormente Meinertz *et al.* (1999) desarrollaron un procedimiento sensible, exacto y preciso con el uso de cromatografía de líquidos para determinar concentraciones de benzocaína y el metabolito N-acetilbenzocaína en el tejido comestible (filete) de *O. mykiss*.

2.1.2. Hipotermia

La temperatura es un factor que influye directamente en el metabolismo de los organismos, afectando todos los procesos fisiológicos en los ectotermos, como el consumo de alimento, metabolismo y eficiencia nutricional (Burel *et al.*, 1996). La tolerancia de los peces a una determinada temperatura depende de la aclimatación (Das *et al.*, 2005) e historial térmico de cada especie.

La hipotermia consiste en una disminución de la temperatura de un organismo y su uso en peces ha demostrado que reduce el metabolismo, minimiza la secreción de amonio, la producción de desechos sólidos, tranquiliza o inmoviliza al organismos y reduce el consumo de oxígeno de los peces (Bell, 1964). Además la disminución de la temperatura incrementa la concentración de oxígeno disuelto en el agua. Así mismo la hipotermia ha sido usada como una medida práctica de anestesia (Hovda y Linley, 2000), y ha sido usada para producir sedación durante el transporte de peces vivos (Rodman, 1963), debiendo evitar que la temperatura del agua aumente sobre la temperatura de inicio, incluso, si es posible, debe reducirse dentro de ciertos límites de acuerdo a la especie (Ross y Ross, 1999). Es comúnmente empleada como anestesia en otros ectotermos como anfibios y reptiles por su capacidad de producir insensibilidad al dolor, parálisis (inmovilización), reducir el metabolismo y la actividad motora (Suckow *et al.*, 1998). Para disminuir la temperatura del agua de cultivo se puede emplear refrigeración, adición de hielo de agua o

hielo seco (CO₂ sólido), en contacto térmico con el agua, pero física y químicamente aislado para evitar contaminación.

Reportes sobre el uso de hipotermia para el transporte de organismos se encuentran citados por Rodman (1963) quién transportó por aire a 0.28°C durante 23 horas juveniles de *Acipenser transmontanus* (Acipenseridae), en bolsas de polietileno con 4 galones de agua y hielo seco entre las bolsas, reportando una supervivencia en excelentes condiciones. Por su parte Havda y Linley (1999) estudiaron el efecto de la combinación de hipotermia y salinidad sobre la supervivencia de huevos y embriones en el salmón *Oncorhynchus gorbuscha* (Salmonidae), encontraron que entre -1.5 y 3°C se presenta anestesia profunda y que el tiempo de recuperación se relacionó con la temperatura y con el tiempo de anestesia, pero sin afectar la supervivencia de los huevos. La hipotermia se ha usado también en combinación con la anestesia química: de acuerdo a Ross y Ross (1999) la dosis de benzocaína para la sedación de crías de tilapias a 25°C es de 30 a 32 mg·L⁻¹ logrando la disminución de hasta 25 mg·L⁻¹ al bajar la temperatura del medio a 18°C.

Aquilina y Roberts (2000) utilizaron nebutal, benzocaína, MS222 y fenoxitol de propileno y dos métodos no químicos: temperatura y exposición al aire para inducir la relajación muscular en *Haliotis iris* (Halotidae); por su parte Celada *et al.* (2000) para almacenar y transportar en bolsas de polietileno huevos y embriones de *Pacifastacus leniusculus* (Astacidae) de 1, 3, 6, 28 y 56 días posteclosión; utilizaron 12±1°C y 4±0.5°C; encontrando que la supervivencia de la etapa juvenil al final del almacenamiento de 4 semanas fue 95% y la de 8 semanas fue de 63% en ambas temperaturas; así como que los huevos fueron viables después del almacenamiento y el transporte de 6 horas seguido por 2 días de almacenamiento.

2.2. Transporte de pescado blanco *C. estor estor*

Las experiencias sobre el transporte del pescado blanco en diferentes etapas de desarrollo, sin el uso de anestésicos se encuentran desde 1963 cuando Solórzano transportó juveniles y adultos vivos con una muy baja supervivencia y a su llegada a los lugares de confinamiento murieron, pero con un éxito parcial el traslado y propagación de huevos en fase embrionaria. Rosas-Moreno (1970) realizó varios experimentos de transporte, de diferente duración, con organismos de distintas edades: 3400 juveniles entre 5 y 7 meses de edad, reportando que alevines de 10 días sobrevivieron al transporte durante la noche al evitarse el ascenso de la temperatura, peces de 3 meses sobreviven a 3 y 4 horas, pero sus

reacciones disminuyeron durante el transporte y los de 300 y 360 días de 8 a 10 cm sobrevivieron y resistieron viajes de 25 horas; mientras peces de 6 meses, 5 o 6 cm presentaron un éxito parcial resistiendo viajes de 8 a 10 horas, con una mortalidad de 15%. Los peces más vulnerables fueron los de 30 días de edad, los cuales no soportaron el manejo y no sobrevivieron al movimiento del vehículo durante el transporte y adultos capturados en campo no resisten 2 horas de transporte; además señala que la causa de mortalidad es la agitación mecánica, no la intoxicación por CO₂ ni la deficiencia de O₂. Por otro lado el mismo autor transportó huevos fecundados artificialmente en una bolsa de plástico con agua limpia e inyectó oxígeno, después de 120 horas de transporte presentaron una supervivencia del 100%. Mientras Armijo y Sasso (1976) al transportar huevos fecundados por 144 horas en bastidores de madera cubiertos con tela de algodón humedecida: 15 000 huevos/colector, encontraron una mortalidad de solo el 2%; por su parte Ríos (2000) transportó huevos de *C. estor copandaro* en bolsas de plástico con agua a salinidad 10‰ para evitar el ataque de *Saprolegnia*, aplicó oxígeno y no reporta mortalidad, también Tello (2004) transportó huevos de *C. estor estor* en bolsas de plástico con 10 litros de agua del lago filtrada a salinidad 5‰ e inyectó oxígeno tampoco reporta mortalidad. Así el transporte de huevos fertilizados en campo no presenta problema.

También se ha usado MS222, xilocaína y xilocaína potenciada con bicarbonato de sodio, en diferentes concentraciones para el manejo y transporte de *Chirostoma humboltianum* silvestres en bolsas de plástico Alvarado y Ruíz (1996) determinaron tiempo de inducción, etapas de anestesia, tiempo de recuperación, factor de condición (K) y el de condición múltiple (KM) para machos y hembras, los cuales no presentaron correlación con el tiempo de inducción y recuperación de los anestésicos utilizados. Ensayaron dos métodos de anestesia para transporte: a) concentración de mantenimiento, en el cual los peces fueron colocados en el medio de transporte con el anestésico al nivel de sedación profunda; b) pretratamiento anestésico los peces fueron previamente anestesiados a los niveles de sedación profunda, anestesia ligera y quirúrgica, posteriormente se colocaron en el medio de transporte con el anestésico de mantenimiento; este último método emplearon para un transporte de 6 horas a anestesia quirúrgica con 175 ppm de MS222 y concentración de mantenimiento de 5 ppm de MS222 para una densidad de carga de 60 g/L.

Existen algunos estudios sobre los efectos en los peces de la calidad del agua, anestésicos y estrés, durante y después del transporte con fines comerciales y repoblamiento; así Schreck

et al. (1995) ensayaron estresar antes del transporte a *Oncorhynchus tshawitscha* (Salmonidae), al bajar los niveles de agua, destellando una luz brillante sobre los tanques, golpeando a los lados de los tanques y ahuyentando a los peces con redes; lo cual no afectó la respuesta fisiológica al estrés durante el transporte y adaptabilidad al agua marina, los niveles de cortisol, glucosa y lactato se establecieron, aumentando la supervivencia y la resistencia a patógenos *Aeromonas salmonicida*; mientras Belanger *et al.* (2001) reportaron en machos de *A. transmontanus* que los estresores transporte + manipulación y bajo nivel de agua incrementaron significativamente el cortisol por encima de los niveles pre-estrés y post-estrés; por su parte Criscuolo *et al.* (2004) encontraron en juveniles de *Brycon cephalus* (Characidae) después de manipulación y transporte de 4, 25 y 96 horas en bolsas de plástico a densidades de 83, 125 y 166 g·L⁻¹ que la glucosa aumentó ligeramente después de la manipulación y significativamente después del transporte, regresó a su valor inicial a las 24 horas postransporte, el cortisol decreció inversamente a la densidad, el cloruro disminuyó después del transporte, la osmolaridad incrementó a altas densidades y regresó al valor inicial después de las 96 horas, el hematocrito aumentó después de la manipulación y no se presentó mortalidad.

Por su parte Weirich, *et al.* (1992) en *Morone chrysops* x *Morone saxatilis* (Moronidae) después de aclimatarse a 5, 10, 20, 40 y 80 mg/L de calcio y salinidades 1, 8, 16 y 24‰ a 25°C, los efectos por manipulación y transporte disminuyeron en agua dulce con suficiente calcio y en agua salada cercana isoosmótica con el plasma, la más alta supervivencia se presentó en 80 mg/L de calcio en agua dulce y 8‰, en agua salada decreció al incrementar la salinidad, la osmolaridad en el plasma decreció en 1‰, aumentó en 16 y 24‰; mientras Tipping (1998) reportó en *O. mykiss* en un transporte con 24 horas de descanso antes de ser liberados, no mejoró la supervivencia; por su parte Pavlidis *et al.* (2003) en juveniles de *Pagrus pagrus* (Sparidae) al usar remoción del agua, evitar diferencias en la temperatura manteniéndola a 19°C y al anestesiarse 0, 10 y 20 ppm de etinolglicol-monofenileter no encontraron diferencias significativas durante transporte de 48 horas a densidades de 20-25 kg/m³, en supervivencia, parámetros del agua, salinidad excepto a 50 ppm del anestésico. Mientras Paterson *et al.* (2003) reportaron en *Lates calcarifer* (Latidae) durante la simulación de transporte y transporte bajo condiciones de elevado e inusuales niveles CO₂ y NH₃ en bolsas, el pH del plasma bajó cerca de niveles letales, poniendo en peligro la habilidad de la sangre para transportar oxígeno, pero las células rojas de la sangre aparentemente mantuvieron su pH interno y la capacidad de transportar oxígeno.

2.2.1. Control del ambiente durante el transporte

Muy comúnmente se realizan algunas prácticas de control del ambiente que favorecen las condiciones de los organismos durante el transporte. Estas son: asegurar la limpieza básica con cambios parciales o completos de agua, adición de oxígeno para una buena oxigenación, reducción de la temperatura, adición de sal (NaCl o CaCl_2) para reducir el trabajo osmótico ($5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl o $50\text{-}75 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ CaCl_2) de peces de agua dulce (Ross y Ross, 1999) y para el balance de electrolitos en el agua (Carmichael *et al.*, 1985; Pavlidis *et al.*, 2003). Se ha reportado que el uso de agua salobre ayuda a reducir la respuesta de estrés incrementando así la supervivencia durante el transporte de peces de agua dulce, al disminuir al mínimo el trabajo osmorregulatorio (Pickering, 1993). También se usan diferentes productos químicos durante el transporte tales como antibióticos o desinfectantes: azul de metileno, verde de malaquita, permanganato de potasio, y acriflavin (clorofenicol, neomicina) entre otros. Las dosis profilácticas varían para cada una de las diferentes prácticas (Ross y Ross, 1999).

Así Hiney *et al.* (1995) emplearon $5.7 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ de benzocaína y $100 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ de flumisol para prevenir furunculosis a 720, 000 crías de *S. salar* durante su transporte con $365 \text{ kg}\cdot\text{m}^3$ en una caja; sin embargo se presentó una inducción furtiva de furunculosis por estrés después del transporte. Peterson y Carline (1996) aplicaron tetraciclina en larvas de *Stizostedion vitreum* (Percidae) durante el marcaje y transporte a diferentes densidades. La supervivencia a 24 horas fue de 82-100% y el marcado no incrementó la mortalidad 24 horas post-transporte; por su parte Singh *et al.* (2004) usaron $20 \text{ mL}\cdot\text{L}^{-1}$ de sulfato de neomicina, 0.01 M Tris buffer, $0.09 \text{ mL}\cdot\text{L}^{-1}$ de 2 fenoxietanol, además de dos agentes para controlar la calidad del agua 250 o $500 \text{ mL}\cdot\text{L}^{-1}$ de Oxyflow y $7 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ Zeolite, para el transporte por 48 horas de 1500 larvas de carpas de la India *Catla catla*, *Labeo rohita* y *Cirrhinus mrigala* (Cyprinidae) en bolsas de polietileno. Estos agentes controlaron la toxicidad del amoníaco, el pH, el crecimiento bacterial y la calidad del agua; su uso no causó efectos post-transporte, reportándose un 100% de supervivencia. Davis y Griffin (2004) en (*M. chrysops* x *M. saxatilis*) indujeron estrés al bajar el nivel del agua, lo cual incrementó el cortisol y glucosa aun con el uso de aceite de clavo, Aquis-S®, MS222, quinaldina y sulfato de quinaldina excepto con el metamidate, 5 g/L de NaCl combinado con anestésicos disminuyó la respuesta al estrés, NaCl solo indujo un incremento temporal en cortisol y no redujo la respuesta debida al estrés.

2.3. *Aloe vera*

Aloe vera (L.) Burm. f. es una planta tropical o subtropical de la familia Liliaceae. Es usada por diversas culturas en la medicina tradicional con propósitos curativos, en tratamientos de desordenes que incluyen cicatrices, heridas y quemaduras (Grindlay y Reynolds, 1986), donde estimula la síntesis de colágeno como resultado de estimular la actividad y proliferación de fibroblastos (Thompson, 1991; Chithra *et al.*, 1998), también se usa con fines cosméticos y para la salud en general (Chithra *et al.*, 1998). Además de varios reportes que describen su actividad anticancerígena, antidiabética, antiinflamatoria, antibiótica, antimicrobial, en la restauración de tejidos, solo o en combinación con otros compuestos (Reynolds y Dweck, 1999).

Dos principales productos son provistos de las hojas del *A. vera*, un látex amarillo (exudados) conocido como purgante (Cheney, 1979 citado por Nobuyuki *et al.*, 1997), compuesto de aloin, aloe-emodin, fenoles, C-glucosylanthrone, aloin-O-metil-7-hidroxi aloin A (barbaloin) y B (isobarbaloin); homonataloin A y B (Okamura *et al.*, 1997); además 8-C-glucosil-7-O-metil-(S)-aloesol, isoaloeresin D y aloeresin E los cuales inhiben la tirosinasa (Okamura *et al.*, 1996), los cuales son abundantes en las capas internas de las células de la epidermis (Nobuyuki *et al.*, 1997; He *et al.*, 2004).

El segundo es un gel claro descolorido, insípido y mucilaginoso obtenido de las células del parénquima (Grindlay y Reynolds, 1986), el cual es usado para estimular la formación de células en los islotes de Langerhans, incluyendo las células beta en tratamientos de enfermedades de la piel. Contiene diversos compuestos inorgánicos: aluminio, boro, bario, calcio, hierro, magnesio, manganeso, sodio, fosfatos, sílice y estroncio (Yamaguchi *et al.*, 1993), y la sustancia activa del gel esta constituidas por un polisacárido de manosa con O-acetilaciones (en aproximadamente 8 de cada 10 manosas) que se conoce como acemannan o CarrisynTM y fracciones activas de glicoproteínas (Reynolds y Dweck, 1999). Estas últimas juegan un papel importante en la actividad terapéutica inmunológica. En experimentos *en vitro* Aguilar *et al.* (2000) demuestran que el polisacárido de manosas activa monocitos y macrófagos, induciendo la producción de IFN- γ , TNF- α , GM-CSF, IL-1 β y IL-6.

En los recientes años ha sido de interés el uso de un polímero de cadena larga, el polivinil pirolidone (PVP), conteniendo también extractos de *A. vera*, para el transporte de peces de acuario. Se cree que este cubre la piel protegiéndola contra la abrasión y en el epitelio

dañado promueve la cicatrización. Todo lo anterior se esta evaluando por acuiculturistas, para emplearse en la distribución de peces desde los laboratorios de producción hasta el consumidor final (Ross y Ross, 1999).

Para el presente estudio se utilizó el producto comercial “Street Coat” un acondicionador de agua de acuarios que contiene extracto de *A. vera*, cuyas indicaciones describen que actúa en la reposición del revestimiento natural de la mucosa de los peces, estimula la cicatrización de heridas en piel y la curación de aletas desgarradas, además de eliminar el cloro del agua se emplea en agua dulce o salada.

2.4. Requerimiento de oxígeno de los organismos acuáticos

El oxígeno es uno de los más importantes gases para los seres vivos. Es principalmente requerido para llevar acabo la oxidación total del material alimenticio y extraerle la máxima cantidad de energía, en un proceso denominado respiración, que es opuesto a la fotosíntesis, formándose como productos finales bióxido de carbono y agua. El consumo de oxígeno puede ser usado como una medida de la actividad metabólica de los organismos en cualquier situación o actividad. Los animales acuáticos toman las pequeñas cantidades de oxígeno disuelto en el agua (Schmidt-Nielsen, 1997).

La tasa respiratoria o tasa de consumo de oxígeno en peces varía de acuerdo a diversos factores incluyendo la velocidad del nado, estado de actividad o de reposo, estrés, peso del cuerpo, niveles de alimentación, cantidad de oxígeno en el agua, temperatura y salinidad (Petersen y Petersen, 1990; Nikinmaa y Salama, 1998; Ross y Ross, 1999; Nikinmaa, 2002). La tasa de consumo de oxígeno refleja el costo de energía del nado y por lo tanto se incrementa marcadamente al aumentar la velocidad de este (Fredman, 1981; Schmidt-Nielsen, 1997). El oxígeno consumido por los peces aumenta también con incrementos en la temperatura; por cada 10°C a menudo incrementa más del doble; a optima temperatura, el máximo consumo de oxígeno puede ser 10 veces más que el consumo estándar (Brett y Glass, 1973).

El conocimiento de los requerimientos de oxígeno de una especie en acuicultura es de vital importancia para evitar disminuciones accidentales de este vital gas durante el crecimiento o durante el transporte. Al conocer la tasa de consumo de oxígeno es posible hacer estimaciones iniciales de requerimientos de este gas en el agua, calcular los límites de las densidades de siembra para los sistemas y hacer evaluaciones de sus requerimientos durante

el transporte dentro del intervalo de temperatura comúnmente encontrado en el campo (Martínez y Ross, 1994). Es muy importante asegurar el suplemento de oxígeno durante el transporte; debe tomarse en cuenta que el consumo de oxígeno puede ser alto durante la primera etapa del trayecto debido al estrés inicial y este periodo particularmente debe ser cuidadosamente manejado (Ross y Ross, 1999).

Se han realizado estudios para determinar la tasa de consumo de oxígeno durante el transporte con anestésicos, como Teo y Chen (1993), quienes reportaron que el uso de 2-fenoxietanol suprimió la tasa de consumo de oxígeno en *Poecilia reticulata* (Poeciliidae) durante la simulación de transporte, pero en *Carassius auratus* (Cyprinidae) no se afectó (Keiser y Vine, 1998). Wedemeyer (1996) reportó en *O. tshawytscha* una tasa de consumo de oxígeno de $210 \text{ mgO}_2 \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ durante el transporte y de $190 \text{ mgO}_2 \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ al usar 10 mL^{-1} de MS222; mientras Hoskonen y Pirhonen (2004) durante el transporte de 3 y 6 horas a diferentes densidades de población usaron diferentes concentraciones de aceite de clavo para cada una de las especies: *Salmon trutta*, *S. salar*, *O. mykiss*, *Coregonus lavaretus* (Salmonidae), *Rutilus rutilus* (Cyprinidae) y *Perca fluviatilis* (Percidae) encontraron que el consumo de oxígeno disminuyó más a 3 horas que a 6, excepto en *C. lavaretus*, la sedación afectó marcadamente el consumo de oxígeno en *S. salar*, *O. mykiss*, *C. lavaretus*, *R. rutilus* y *P. fluviatilis*; por su parte Grøttum *et al.* (1998) reportaron tasas de consumo de oxígeno en pre-exposición a amonio en *Pomatoscistus* sp. (Gobiidae) $0.3\text{-}0.9 \text{ g}$ de $46.2 \pm 8.4 \text{ mgO}_2 \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ y en testigo sin amonio de $64.2 \pm 8.9 \text{ mgO}_2 \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$, anestesiados con 10 mg/L de metamidate seguida por anestesia ligera con 1 mg/L pre-exposición a amoniaco. Petersen y Petersen (1990) reportan una tasa de consumo de oxígeno habitual de $48\text{-}72 \text{ mgO}_2 \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ en *Pomatoscistus minus* (Gobiidae) de $1\text{-}3 \text{ g}$ a 6°C .

Durante el transporte por aire de *Amphiprion ocellaris* (Pomacentridae), la temperatura afectó la tasa metabólica, cambios graduales sobre 25°C incrementaron el consumo de oxígeno, pero los valores de Q_{10} fueron constantes. (Chow *et al.*, 1994). Basados en un modelo de la teoría de hidrodinámica con datos de respiración Wakeman y Wohlschlag (1981-1982) predijeron, en cuatro especies de peces estuarinos pelágicos un costo mínimo de transporte $110 \text{ mgO}_2 \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{km}^{-1}$ por pez de 30 cm longitud.

Otros estudios reportan tasas de consumo de oxígeno durante diferentes condiciones. Wuenschel *et al.* (2005) en juveniles *Lutjanus griseus* (Lutjanidae) encontraron que altas salinidades incrementaron el costo metabólico y la tasa de consumo de oxígeno,

observándose una disminución del crecimiento. El efecto de la salinidad fue dependiente de la temperatura, en altas temperaturas (30-33°C) aumentó el consumo de oxígeno por °C a 0.0045 mgO₂·h⁻¹; mientras que a 18°C la salinidad (5-45 psu) no afectó el consumo de oxígeno. Por su parte Das *et al.* (2005) encontraron en larvas de *L. rohita* aclimatadas a 26, 31, 33 y 36°C; que la tasa de consumo de oxígeno aumentó significativamente al incrementar la temperatura de aclimatación.

Además algunos estudios reportan tasa de consumo de oxígeno en respuesta a hipoxia en peces. Martínez y Ross (1986) investigaron los efectos de la temperatura, peso corporal e hipoxia en las tasas de respiración en reposo de *Cichlasoma urophthalmus* (Cichlidae) basados en estos datos calcularon la concentración de oxígeno necesaria para suplir en el agua y con ello calcular la tasa de siembra; por su parte Muusze *et al.* (1998) evaluaron la tasa de consumo de oxígeno en descanso, rutina y actividad, a diferentes niveles de oxígeno en condiciones de hipoxia en *Astronotus ocellatus* (Cichlidae); reportan una tasa metabólica rutinaria de 10.8 mgO₂·h·100 g en normoxia (6.32 mgO₂/L) y de 4,4 mgO₂·h·100 g en (0.47 mgO₂/L), la tasa de consumo de oxígeno disminuyó al declinar el porcentaje de aire saturado pero al aumenta el grado de actividad se elevó. Conceição, *et al.* (1998) encontraron en larvas con saco vitelino, larvas alimentadas con alimento exógeno y juveniles de *Clarias gariepinus* (Clariidae), que la tasa de consumo de oxígeno fue mayor a menor peso (de 1 a 0.033 µmolO₂·mg·h⁻¹), disminuyó al aumentar el peso de 32.8 a 990.6 µmolO₂·mg·h⁻¹, juveniles de tallas más pequeñas requirieron más oxígeno para mantenimiento y crecimiento. También Pichavant *et al.* (2000) encontraron en juveniles de *Scophthalmus maximus* (Scophthalmidae) de 120 g expuestos a diferentes niveles de oxígeno durante 45 días, que la tasa de alimentación y crecimiento significativamente disminuyeron en hipoxia 5.0±0.3 mgO₂/L y normoxia 7.2±0.3 mgO₂/L; el consumo de oxígeno de peces alimentados aumentó significativamente en normoxia que sobre hipoxia; por su parte Thetmeyer *et al.* (1999) encontraron en *Dicentrarchus labrax* (Moronidae) que el crecimiento disminuyó durante moderada hipoxia y oscilaciones del oxígeno, porque consumieron significativamente menos alimento.

III. OBJETIVOS

3.1. Objetivo general

Evaluar los efectos sedativos individuales y combinados de la benzocaína e hipotermia, el efecto protector del *Aloe vera* y la tasa de consumo de oxígeno en juveniles de *Chirostoma estor estor* para su transporte.

3.2. Objetivos particulares

3.2.1. Evaluar efectos en nivel de sedación, comportamiento en nado, recuperación y supervivencia, durante y después de la exposición de juveniles de *C. estor estor* a el anestésico benzocaína.

3.2.2. Evaluar efectos en nivel de sedación, comportamiento en nado, recuperación y supervivencia durante y después de la aplicación de hipotermia en juveniles de *C. estor estor*.

3.2.3. Determinar efectos en nivel de sedación, comportamiento de nado, recuperación y supervivencia durante y después del uso combinado de benzocaína e hipotermia en juveniles de *C. estor estor*.

3.2.4. Determinar el efecto combinado del uso de benzocaína e hipotermia durante el transporte de juveniles de *C. estor estor* y los efectos del postransporte hasta las 48 horas con relación a recuperación y supervivencia.

3.2.5. Evaluar daños en términos de erosión de aletas y pérdida de escamas durante el transporte con y sin el uso de *A. vera*.

3.2.6. Llevar acabo el trasporte de juveniles de *C. estor estor* del laboratorio de reproducción en Morelia para su siembra en estanques en la comunidad de Ichupio, Tzintzuntzán, Michoacán a 60 km de distancia.

3.2.7. Determinar la tasa de consumo de oxígeno en reposo, después de alimentación (postprandial) y estrés por manipulación en juveniles de *C. estor estor*.

IV. HIPÓTESIS

Si el uso de la combinación de benzocaína, hipotermia y *A. vera* favorece el transporte de los juveniles de *C. estor estor* entonces es posible aumentar la supervivencia de estos organismos, disminuir el estrés y los daños ocasionados por el manejo y el transporte.

V. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1. Pruebas de laboratorio

La fase experimental se llevó a cabo en el Laboratorio de Acuicultura INIRENA-UMSNH. Se realizaron 8 experimentos.

5.1.1. Organismos y condiciones experimentales

Se seleccionaron juveniles de *C. estor estor* del Laboratorio de Producción; los cuales se colocaron en tanques de 400 litros a una salinidad de 5‰, con aeración constante a una temperatura entre 19°C a 28°C, realizando recambios de agua cada tercer día durante el experimento y se alimentaron con *Artemia franciscana* adulta y alimento balanceado con 40% de proteína.

5.1.2. Criterio de Eficacia

Para determinar el efecto del anestésico en juveniles de *C. estor estor* en este proyecto se tomaron como base las actividades (equilibrio, nado, movimiento opercular) y sus niveles de actividad (normal, inseguro, muy inseguro, pérdida parcial, pérdida total) propuestas por Chung, 1980; tomado de Hovda y Linley, 2000, modificado al incluir el signo de sensibilidad al tacto (Ross y Ross, 1999)(Tabla 2). Sin embargo el criterio utilizado para determinar la eficacia del anestésico se basó en las etapas de anestesia propuestas por McFarland (1959), de acuerdo a la respuesta de los peces indicada por los niveles de actividad y signo (Tabla 3).

Tabla 2. Etapas de anestesia asociadas a niveles de actividad (Chung, 1980); tomado de Hovda y Linley, 2000 modificada con el signo de sensibilidad al tacto de acuerdo a Ross y Ross (1999).

ETAPA DE ANESTESIA	ACTIVIDAD Y SIGNO			
	Equilibrio	Nado	Movimiento opercular	Sensibilidad al tacto
Ninguno (recuperado completamente)	Normal	Normal	Normal	Normal
Inactividad	Inseguro	Pérdida parcial	Pérdida parcial	Pérdida total
Pérdida de movimiento	Muy inseguro	Pérdida total	Pérdida parcial	Pérdida parcial
Completa anestesia	Pérdida total	Pérdida total	Pérdida total	Pérdida total

Tabla 3. Etapas de anestesia en peces. Según McFarland (1959); tomado de Ross y Ross (1999).

Etapas	Nivel	Descripción	Signos de conducta físicos
I	1	Sedación ligera	Respuesta a estímulos, se reduce el movimiento y la ventilación decrece
	2	Sedación profunda	Como anterior: algo de analgesia, solamente responde a severa estimulación
II	1	Anestesia ligera	Pérdida parcial de equilibrio. Buena analgesia
	2	Anestesia profunda	Pérdida total de tono muscular y equilibrio, ventilación casi ausente
III		Anestesia quirúrgica	Como anterior: pérdida total de reacción aún a estimulación masiva
IV		Colapso medular	Cesa la ventilación; paro cardíaco, muerte eventual. Sobredosis

La inducción de un estado fisiológico de sedación se define como aquel en que los peces pueden mantener su postura normal en el agua, con movimiento opercular activo, que los mantiene menos inquietos y les reduce la magnitud y duración de la respuesta fisiológica de estrés inducida por manipulación, manejo y/o transporte. Se considera que el nivel de anestesia conocido como sedación profunda es el más benéfico para el transporte de peces ya que reduce la reacción a disturbios durante el transporte, el metabolismo, el consumo de oxígeno y la acumulación de metabolitos por desechos (McFarland, 1960; citado por Rodman, 1963). El nivel de sedación profunda se define como una pérdida total de reacción a estímulos externos, excepto a una fuerte presión y una ligera disminución de la tasa opercular McFarland (1959).

Sin embargo un estado de anestesia completa no es deseable para el transporte de peces porque se presenta una pérdida total de equilibrio, lo cual tiene un efecto negativo al permitir el contacto entre los organismos y de ellos con el contenedor; este es solamente sugerido para una efectiva manipulación de los peces en el campo o el laboratorio (Ross y Ross, 1999; Davis y Griffin, 2004).

Para interpretar los resultados, se evaluaron los efectos en las actividades y en el signo de sensibilidad al tacto en los peces por tratamiento de acuerdo a 4 niveles de actividad (normal, inseguro, pérdida parcial y pérdida total) los dos últimos niveles indican un efecto directo en alguna actividad y signo, permitiendo determinar la etapa de anestesia durante la exposición a las concentraciones de benzocaína.

Se sumó el número de peces de cada réplica que presentó pérdida parcial y total de alguna actividad y signo promediándose con el número total de peces utilizados por tratamiento durante la exposición al anestésico y recuperación; con estos datos se elaboraron las respectivas gráficas (Anexo 5) para su análisis y se determinó la etapa de anestesia correspondiente por dosis. Para fines prácticos los promedios de pérdida (parcial y total) se sumaron en cada tratamiento determinándose el porcentaje de peces afectados, los datos se expresaron en forma gráfica y se describieron (Figuras 3-26).

5.2. Serie experimental

5.2.1. Experimento 1. Efecto de benzocaína como anestésico

En el primer experimento se probaron once concentraciones de benzocaína: 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21, 24, 27, 30 y 40 mg/L. Así se establecieron 11 tratamientos cada uno con tres réplicas, tres tinas de recuperación para introducir los peces después de ser expuestos a benzocaína y un testigo sin anestesia. Con lo cual se tuvo un total de 77 unidades experimentales de 57 x 40 x 27 cm con capacidad de 54 L, aunque solo se llenaron con 15 L a 5‰, con aireación constante y $25.2 \pm 2.7^{\circ}\text{C}$.

Para obtener las diferentes concentraciones de benzocaína se preparó la solución Stock, en un frasco color ámbar se disolvió 100 g de benzocaína en un litro de etanol; para obtener la cantidad de solución a utilizar por concentración se empleo la fórmula:

$$V1C1 = V2C2$$

$$V1 = (V2 C2) \div C1$$

Donde:

V1 = Volumen solución inicial o stock.

C1 = Concentración solución stock.

V2 = Volumen solución a preparar.

C2 = Concentración final de la solución a preparar.

La concentración de benzocaína correspondiente por tratamiento se administró con una jeringa hipodérmica de 1 mL lentamente con movimientos en zig zag y mezcló con movimientos fuertes con una pala plana durante 3 minutos para tratar de eliminar el etanol, antes se sacó la cantidad de agua correspondiente a los mililitros de solución stock a introducir. Se colocaron 10 peces por réplica en el baño de benzocaína y se realizaron observaciones en el siguiente periodo de tiempo: 1, 2, 4, 8, 16, 32 y 64 minutos, para un

total de siete tiempos por tratamiento. Se evaluó efectos en el comportamiento en nado, el nivel de sedación alcanzado y la supervivencia (Anexo 1).

Recuperación del experimento 1

Al concluir el tiempo de exposición a la benzocaína se sacaron los peces con una red y colocaron inmediatamente en tinas de recuperación correspondientes a cada réplica y con la mismas condiciones, pero sin anestésico, y se realizaron observaciones en el siguiente período de tiempo 1, 2, 4, 8, 16, 32 y 64 minutos, en los cuales se evaluó el comportamiento en nado, el nivel de sedación alcanzado, durante el tiempo de recuperación y la supervivencia (Anexo 1).

5.2.2. Experimento 2. Efecto de hipotermia

En el segundo experimento se inicia a partir de $23.8 \pm 2.8^{\circ}\text{C}$ que fue la temperatura ambiente registrada durante su realización; se redujo la temperatura en intervalos de 3°C obteniendo la siguiente relación 21, 18, 15, 12 y 9°C . Así se establecieron 5 tratamientos, correspondientes a las diferentes temperaturas cada uno con tres réplicas y su testigo a temperatura ambiente. Con lo cual se tuvo un total de 20 unidades experimentales de 57 x 40 x 27 cm con capacidad de 54 L, aunque solo se llenaron con 15 L a 5‰ y aireación constante con dos piedras de airear colocadas en cada extremo de las tinas para homogenizar la temperatura. Se colocaron 10 peces por réplica se bajó la temperatura con hielo molido en bolsas de plástico 18 x 27 cm con capacidad de 500 g, se añadió gradualmente hasta la temperatura requerida en un tiempo total de 25 minutos, para permitir cierta aclimatación. Se realizaron observaciones en el siguiente periodo de tiempo 1, 2, 4, 8, 16, 32, 64, 94 y 120 minutos para un total de nueve tiempos por tratamiento. Se evaluó el comportamiento en nado, nivel de sedación alcanzado y supervivencia (Anexo 2). El hielo se obtuvo de una máquina productora de hielo Lift 6Slide y se trituró en un molino de hielo Servitronic.

Recuperación del experimento 2

Al concluir el tiempo de exposición a la temperatura, se agregó agua caliente lentamente a cada réplica para elevar la temperatura del agua e igualarla a la temperatura ambiental, con un periodo de aclimatación de 25 minutos, y se realizaron observaciones en el siguiente periodo de tiempo 1, 2, 4, 8, 16, 32, 64, 94 y 120 minutos, en los cuales se evaluó antes,

durante y después del cambio de temperatura el comportamiento en nado, el nivel de sedación alcanzado durante el tiempo de recuperación y la supervivencia (Anexo 2).

5.2.3. Experimento 3. Combinación de benzocaína y de hipotermia

En el tercer experimento de acuerdo a los resultados de los experimentos 1 y 2 se utilizó la combinación de diferentes concentraciones de benzocaína y temperaturas, que indujeron sedación ligera y profunda en los peces. Se establecieron ocho tratamientos cada uno con tres réplicas:

1. 18 mg/L de benzocaína y 12°C
2. 15 mg/L de benzocaína y 12°C
3. 12 mg/L de benzocaína y 12°C
4. 9 mg/L de benzocaína y 12°C
5. 18 mg/L de benzocaína y 15°C
6. 15 mg/L de benzocaína y 15°C
7. 12 mg/L de benzocaína y 15°C
8. 9 mg/L de benzocaína y 15°C

Con lo cual se tuvo para un total de 24 unidades experimentales de 57 x 40 x 27 cm con capacidad de 54 L, aunque solo se llenaron con 15 L a 5‰ y aireación constante con dos piedras de airear colocadas en cada extremo de las tinas para homogenizar la temperatura y se colocaron 10 peces por réplica. Se utilizaron los mismos procedimientos que en los experimento 1 y 2 para aplicar la dosis deseada de benzocaína y para bajar la temperatura, respectivamente. Se consideraron los mismos tiempos del experimento de hipotermia (Anexo 2) para realizar las mismas observaciones compartimentales que en los experimentos anteriores.

Recuperación del experimento 3

Al concluir el tiempo de exposición a la benzocaína e hipotermia se sacaron los peces con una red y colocaron inmediatamente en tinas de recuperación correspondientes a cada réplica y con las mismas condiciones, pero sin anestésico, y se agregó agua caliente lentamente para elevar la temperatura del agua e igualarla a la temperatura ambiental, con un periodo de aclimatación de 25 minutos y se realizaron las mismas observaciones compartimentales que en los experimentos anteriores (Anexo 2).

5.2.4. Experimento 4. Beneficios del *Aloe vera* y transporte por 3:30 horas

En el transporte se utilizó una caja de cartón doble corrugado de 1 m x 61 x 62 cm de alto, internamente forrada con unicel de 1 cm de espesor; se diseñó la tapa con unicel adaptada al tamaño de la caja, para conservar la temperatura en el interior. Se realizaron ensayos previos en bolsas de 70 x 40 cm con 9 L de agua a la temperatura 15°C sin peces, colocándose un termómetro entre cada bolsa para obtener la lectura de la temperatura del agua, dentro de la caja y la del ambiente, con la finalidad de conocer el tiempo en que se conserva la temperatura y la cantidad de hielo a utilizar para mantenerla constante; así se realizó un experimento bajo las mismas condiciones en laboratorio y transporte por 2 horas.

De acuerdo al experimento 3 la combinación que se utilizó fué 12 mg/L de benzocaína y 15°C de temperatura en la cual los peces presentaron sedación profunda para emplearse en el transporte utilizando *A. vera*. Así se establecieron 8 tratamientos incluido el testigo, cada uno con tres réplicas:

1. Transporte, con benzocaína e hipotermia y con *A. vera*, T+BH+AV.
2. Transporte, con benzocaína e hipotermia y sin *A. vera*, T+BH-AV.
3. Transporte, sin benzocaína e hipotermia y con *A. vera*, T-BH +AV.
4. Transporte, sin benzocaína e hipotermia y sin *A. vera*, T-BH-AV.
5. Sin transporte, con benzocaína e hipotermia y con *A. vera*, -T+BH+AV.
6. Sin transporte, con benzocaína e hipotermia y sin *A. vera*, -T+BH-AV.
7. Sin transporte, sin benzocaína e hipotermia y con *A. vera*, -T-BH+AV.
8. Sin transporte, sin benzocaína e hipotermia y sin *A. vera*, -T-BH-AV (Testigo).

Así el primer lote experimental (1, 2, 3 y 4) se transportó por 3:30 horas y el segundo lote (5, 6, 7 y 8) se mantuvo estático en el laboratorio por 3:30 horas bajo las mismas condiciones de temperatura.

Se utilizaron bolsas de plástico transparentes 70 x 40 cm las cuales fueron cubiertas con bolsas negras de 70 x 40 cm para disminuir el estrés por luz; teniendo un total de 24 unidades experimentales.

Se preparó agua a 5‰, se procedió a reducir la temperatura con hielo en bolsas de plástico a 14°C, un grado menos de la seleccionada, por la ganancia de calor durante el empaque. Los peces se aclimataron a la temperatura de 14°C en tinas de 80 x 54 x 30 cm añadiéndose hielo en bolsas de plástico para bajar la temperatura. En cada bolsa se añadieron 9 L de agua, 12 mg/L de benzocaína con una jeringa hipodérmica de 1 mL y 2.25 mL de Stress

Scoat (se aplican 10 mL por 40 L de agua) con una jeringa de 5 mL cuando se requirió. Se introdujeron 10 peces por bolsa e inyectó oxígeno industrial introduciendo la manguera en el agua, se giró la bolsa sacando la manguera del agua hasta llenar de aire a dos cuartos de la bolsa, se cerró la primera bolsa con ligas haciendo un amarre posteriormente se introdujeron en la bolsa negra y se colocaron en la caja. En los tratamientos con hipotermia se intercalaron 3 bolsas con 500 g de hielo entre las bolsas para su transporte. Se realizaron dos transportes cada uno con dos tratamientos; cada 15 minutos se midió la temperatura del ambiente dentro de la camioneta, dentro de la caja y la del agua de las bolsas, se añadió hielo para mantenerla constante durante el trayecto. Se recorrió una distancia de 150 kilómetros aproximadamente (Morelia-Quiroga-Ichupio-Tzintzuntzán-Morelia).

Recuperación del experimento 4

Al concluir el transporte se llevaron los peces al Laboratorio, se procedió a introducir las bolsas en tinas de plástico transparente de 57 x 40 x 27 cm con capacidad de 54 L, aunque solo se llenaron con 15 L a 5‰, con aireación constante, se abrieron las bolsas así los peces fueron aclimatados por 20 minutos a $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ temperatura a la cual se encontraba el agua de las tinas, se sacaron de cada bolsa con una red y colocaron en las tinas de recepción.

Para contar el número de escamas de cada réplica por tratamiento se filtró el agua de cada bolsa en un colador con una malla de 2.2 mm de luz y con agua de la llave se enjuagó tres veces para filtrarse nuevamente así extraer las escamas y colocarse en vasos de plástico de 40 mL. Por otro lado, también se limpió la red utilizada para sacar los peces con el agua para recuperar las escamas perdidas en el proceso las cuales también fueron contabilizadas. El conteo se realizó en cajas de petri con la ayuda de una aguja de disección, lupa y Microscopio Estereoscópico ZEISS.

Se evaluó en los peces el efecto del post-transporte con relación a su comportamiento y supervivencia después del transporte 0 minutos (dentro de las bolsas), 2, 24 y 48 horas (Anexo 3) y cuando se regresaron a los tanques de recepción. Se evaluaron los efectos del *A. vera* por erosión de aletas y pérdida de escamas. Los tratamientos sin transporte se dejaron en la caja que se diseñó para el transporte en el Laboratorio de Acuicultura durante 3:30 horas y posteriormente se hizo el mismo procedimiento explicado anteriormente.

5.2.5. Experimento 5. *Aloe vera* y transporte por 8:30 horas

Para determinar si existían diferencias significativas al usar *A. vera* se realizó el siguiente experimento en un tiempo de 8:30 horas de transporte. Se seleccionaron tres tratamientos, cada uno con tres réplicas incluyendo el testigo:

1. Transporte, con benzocaína e hipotermia y con *A. vera*, T+BH+AV.
2. Transporte, sin benzocaína e hipotermia y sin *A. vera*, T-BH-AV.
3. Sin transporte, sin benzocaína e hipotermia y sin *A. vera*, -T-BH-AV (Testigo)

Se utilizó el mismo sistema de bolsas y los mismos procedimientos descritos en el experimento 4 para bajar la temperatura, empacar, aplicar la dosis de benzocaína y *A. vera* en el tratamiento T+BH+AV y transportar, respectivamente. En el tratamiento con hipotermia se intercalaron dos bolsas con 500 g de hielo entre las bolsas para su transporte. Cada 2 horas, se midió la temperatura del agua contenida en las bolsas y la del ambiente dentro de la camioneta; se añadió hielo para mantenerla constante cuando se requirió.

La caja diseñada en el experimento anterior se modificó con una división de unicel a la mitad de la caja perfectamente sellada para separar cada tratamiento y mantener la temperatura en cada uno. Se recorrió una distancia de 500 kilómetros aproximadamente.

Recuperación del experimento 5

Al concluir el transporte se realizó el mismo procedimiento que en el experimento 4 bajo las mismas condiciones de temperatura ambiente. Posteriormente, se sacaron los peces de la bolsa con una red, y se transfirieron a las tinas de recepción, se contó el número de escamas tal como ya se mencionó. Se evaluó el efecto del post-transporte al minuto 0, después de 2, 24 y 48 horas en las tinas de recepción de acuerdo a su comportamiento y supervivencia (Anexo 3). El tratamiento sin transporte (testigo) se dejó en el laboratorio a temperatura de 23°C.

5.2.6. Experimento 6. Transporte práctico de 4,848 juveniles *C. estor estor* a Ichupio, Tzintzunán, Michoacán

Se transportaron del laboratorio 4,848 peces con la técnica desarrollada para su cultivo en sistemas semintensivos en Ichupio. Se utilizó el mismo sistema de bolsas y los mismos procedimientos descritos anteriormente pero se introdujeron en cada bolsa 120 juveniles de *C. estor estor*. Las bolsas se colocaron apiladas en cajas de plástico de 1 x 1 x 1 m, 3 bolsas con 500 g de hielo se intercalaron entre las bolsas, las cajas se colocaron en camionetas y cubrieron con una lona de plástico para su transporte.

5.2.7. Experimento 7. Tasa de consumo de oxígeno

En un sistema de recirculación en flujo continuo se utilizaron 4 tanques con capacidad de 70 L en los cuales se colocaron 20 peces y se taparon con plástico negro durante el periodo experimental para evitar disturbios durante la medición del oxígeno (Figura 2).

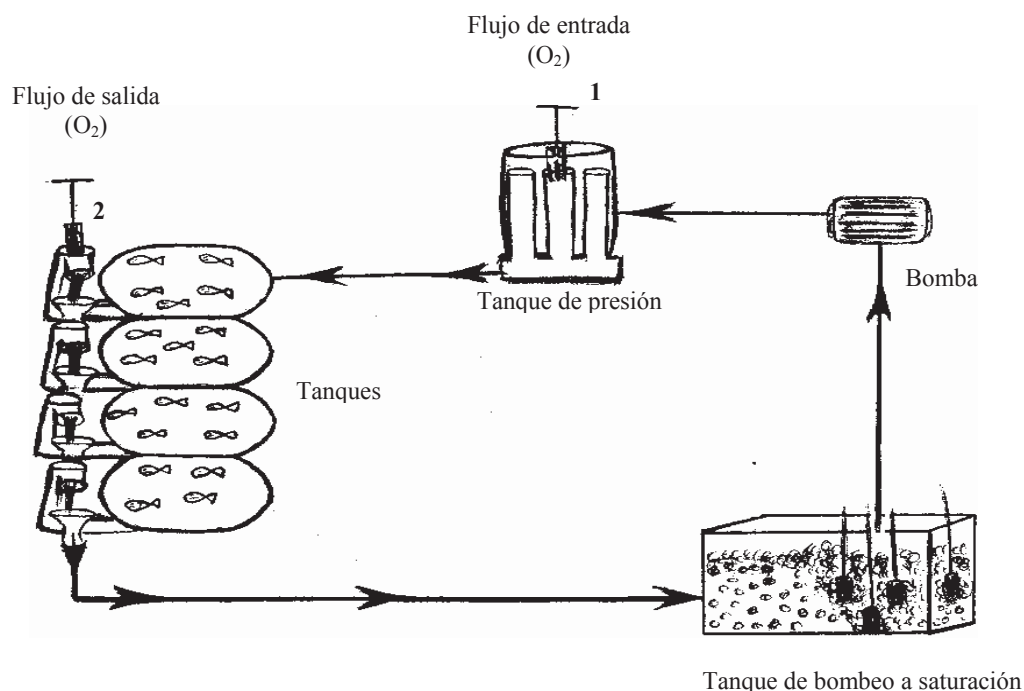


Figura 2. Sistema de recirculación en flujo continuo usado para determinar la tasa de consumo de oxígeno. Las flechas indican la dirección del flujo de agua. (1 y 2 sensor de oxígeno).

Se anestesiaron los 20 peces de cada tanque con 27 mg/L de benzocaína (anestesia profunda) en una tina con 3 L de agua a 5‰. Una vez anestesiados, los peces se pesaron y se introdujeron en una tina con agua a 5‰ para su recuperación y desecho de la anestesia; posteriormente se introdujeron a los tanques del sistema de recirculación y cada tanque se tapó con un plástico negro.

El flujo de agua de cada tanque se midió al cabo de 1, 5 y 10 minutos con una cubeta con capacidad de 15 L; se determinó la cantidad de agua con una probeta de 1000 mL, obteniéndose el promedio para obtener el flujo por hora.

Para determinar la tasa de consumo de oxígeno bajo diferentes condiciones se establecieron tres tratamientos con cuatro replicas:

1. Reposo: se realizaron mediciones a las 8:15 y 9:15 pm de la noche, se midió el oxígeno que entra y sale de cada tanque.

2. Postprandial: los peces fueron alimentados *al libitum* después de 1 y 5 minutos se midió el oxígeno que entra y sale de cada tanque.
3. Estrés: se procedió a simular la captura ahuyentando los peces intensamente con la red dentro de cada tanque, después de 1 y 5 minutos de ser estresados, se midió el oxígeno que entra y sale de cada tanque.

El consumo de oxígeno se midió durante 4 días seguidos en cada tratamiento en reposo, después de alimentación (postprandial) y estrés por manipulación, se usó la diferencia del oxígeno disuelto (mg/L) entre el flujo de agua que entra y del flujo de agua que sale de cada tanque, y se multiplicó por el flujo del agua a través de los tanques (L/hora) y el peso en (kg) de los peces y se expresó en $\text{mgO}_2 \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$.

Para las lecturas del oxígeno en el sistema se usó un sensor de oxígeno manual diariamente calibrado marca YSI Modelo 55.

Con los valores se procedió a conocer la cantidad de oxígeno consumido por $\text{mgO}_2 \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ de acuerdo al siguiente criterio:

$$\text{DO}_21 - \text{DO}_22 * \text{Flujo de H}_2\text{O a través del tanque} * 1000 / \text{Peso total de peces} = \underline{\text{mgO}_2 \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}}$$

Donde:

D O₂1= concentración de O₂ que entra en el tanque

D O₂2= concentración de O₂ que sale del tanque (cantidad consumida por los peces)

5.2.8. Tiempo de consumo de oxígeno en bolsas

Obtenidas las tasa de consumo de oxígeno se determinó la cantidad de $742.6 \text{ mgO}_2 \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ consumido por 20 peces con biomasa 151.3 g después de 1 minuto de ser estresados, con este valor se calculó teóricamente la cantidad de oxígeno necesaria para transportar durante 16 horas 10 peces con biomasa de 75.65 g (0.07565 kg) en bolsas de plástico de 70 x 40 cm en 9 L de agua a 5‰, saturada a 6 mgO_2/L , así se determinó una tasa de consumo de oxígeno de 790.8 mgO_2 e inyectó el oxígeno evitando tocar el agua dentro de las bolsas. Se estableció dos tratamientos para simulación de transporte cada uno con tres réplicas:

1. Transporte con 12 mg/L de benzocaína e hipotermia 15°C (sedación profunda)
2. Transporte sin benzocaína e hipotermia a 22°C temperatura ambiente (Testigo)

Las bolsas de los dos tratamientos fueron colocadas en la caja usada en el experimento 5, se colocó en un carrito de 1.50 x 60 cm con cuatro llantas en el cual se simuló un transporte

moviéndose hasta el tiempo teórico de 16 horas de duración del oxígeno en las bolsas del testigo y así corroborar el tiempo de duración del oxígeno.

Al concluir el experimento se procedió a introducir las bolsas en tinas de plástico transparente de 57 x 40 x 27 cm con capacidad de 54 L, las cuales contenían 15 L de agua a 5‰, con aireación constante; inmediatamente se abrieron y midió el oxígeno contenido en el agua; los peces fueron aclimatados por 20 minutos a 23°C temperatura a la cual se encontraba el agua de las tinas, se sacaron de cada bolsa con una red y colocaron en las tinas de recepción. Los peces fueron alimentados con *A. franciscana* enriquecida con vitamina C a las 48 horas después de post-simulación de transporte.

5.3. Parámetros evaluados

5.3.1. Análisis fisicoquímico del agua

Se analizaron las siguientes variables fisicoquímicas del agua: salinidad con un Refractómetro ATAGO S/Mill Salinity: 0-100‰; oxígeno disuelto con Oxímetro YSI Modelo 52CE y 55; temperatura con Termómetro graduado de 50°C a -20°C Brannan y pH con un potenciómetro Accumet Basic AB15 Fisher Scientific.

5.3.2. Biometrías de los organismos

Se pesaron los peces durante la realización del experimento con una balanza de precisión Metter TOLEDO PB 153-S con un rango de 0.02 g a 151 g y las biometrías que comprenden longitud promedio, longitud estándar y ancho máximo se hicieron con un vernier de plástico de 15 cm.

Los peces que se transportaron tenían una edad de 3 y 7 meses, se tomó del lote 330 peces, obteniéndose el peso promedio y longitud patrón promedio.

5.4. Tratamiento estadístico

Los análisis estadísticos se realizaron con los paquetes estadísticos Statistical Software MINITAB Versión 13.32 y Minitab, Inc 2000 y MVSP3.0 Multivariate Statistical Package Versión 3.01 Kovach Computing Services 1988. Los resultados experimentales fueron comparados mediante un análisis de varianza ANOVA de una vía y las diferencias entre las medias fueron identificadas con la prueba de Fisher y Tukey a un nivel de significancia de (95%) $\alpha = 0.05$. Para la elaboración de tablas y gráficas se utilizó el paquete estadístico Microsoft Excel versión 2000 Microsoft Corporation 1985-1999.

VI. RESULTADOS

6.1. Benzocaína

Durante la exposición de juveniles de *C. estor estor* a las dosis de 3, 6 y 9 mg/L de benzocaína los peces no mostraron efectos en sus actividades y signos (resultados no mostrados).

En 12 mg/L de benzocaína (Figura 3), se observa que el 20% de los peces presentaron pérdida de nado a 16 minutos manteniéndose así hasta los 64 minutos; en esta dosis no se determina alguna etapa de anestesia. Los peces al ser sacados del baño de benzocaína en agua a 5‰ inmediatamente recuperaron el nado.

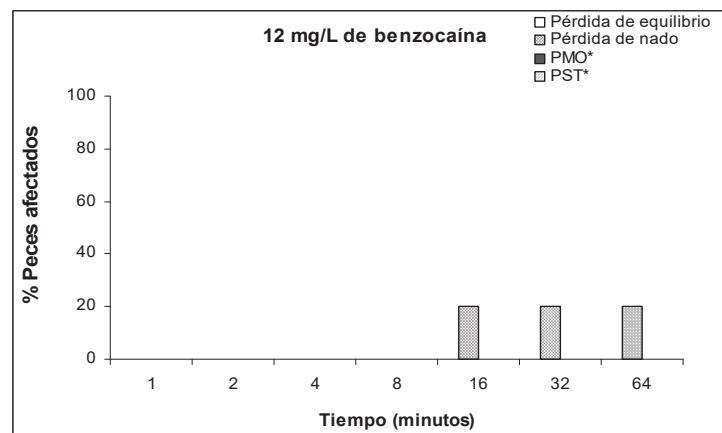


Figura 3. Porcentaje de peces afectados en el tiempo por pérdida de sus actividades y signos durante la exposición a 12 mg/L de benzocaína. PMO*= Pérdida de movimiento opercular, PST*= Pérdida de sensibilidad al tacto.

En 15 mg/L de benzocaína (Figura 4a) se observa que el 13.3% de los peces presentaron pérdida de nado a los 4 minutos este porcentaje aumentó hasta 56.7% a 64 minutos, pérdida de sensibilidad al tacto se presentó en 13.3% de los peces a 4 minutos este porcentaje aumentó hasta 43.4% a los 64 minutos, pérdida de equilibrio se presentó en 10% de los peces a los 32 minutos este porcentaje aumentó hasta 23.3% a los 64 minutos y pérdida de movimiento opercular se presentó a los 64 minutos en 20% de los peces. Los signos obtenidos con esta dosis corresponden a una etapa de sedación ligera (Etapa I, Nivel 1).

Los peces recuperaron sus actividades (Figura 4b) al ser sacados del anestésico en agua a 5‰ después de los 4 minutos.

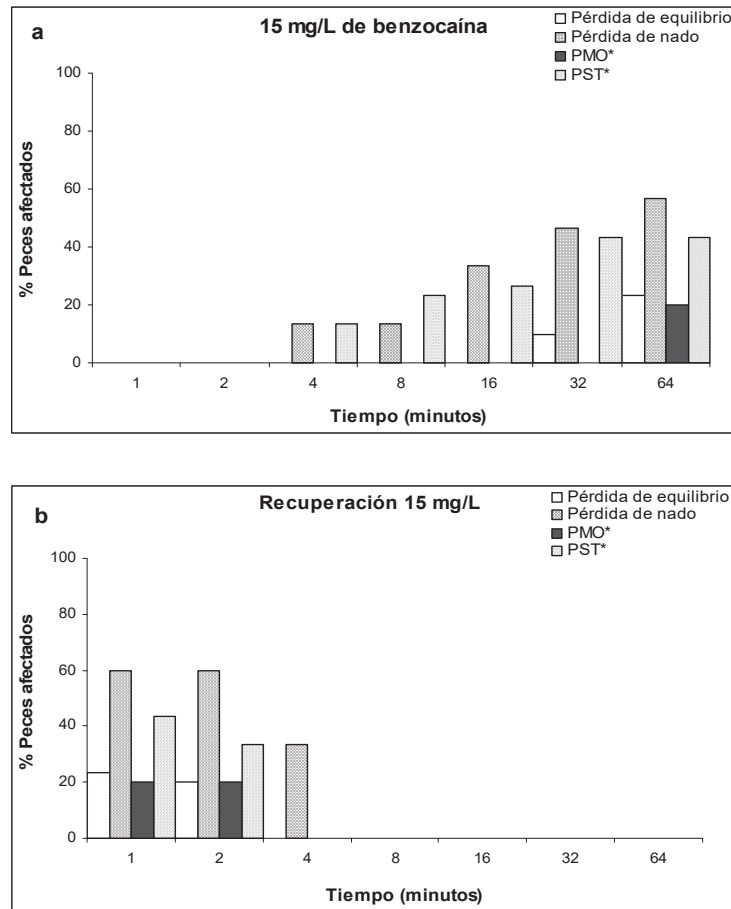


Figura 4. Porcentaje de peces afectados en el tiempo por pérdida de sus actividades y signos durante la exposición a: a) 15 mg/L de benzocaína y b) durante la recuperación en agua a 5‰. PMO*= Pérdida de movimiento opercular, PST*= Pérdida de sensibilidad al tacto.

En 18 mg/L de benzocaína (Figura 5a) se observa que el 13.3% de los peces presentaron pérdida de nado a 4 minutos este porcentaje aumentó hasta 50% a los 64 minutos, pérdida de sensibilidad al tacto se presentó en 23.3% de los peces a los 4 minutos este porcentaje aumentó hasta 70% a los 64 minutos y pérdida de equilibrio se presentó en 3.3% de los peces a los 8 minutos este porcentaje aumentó hasta 30% a los 64 minutos. Los signos obtenidos con esta dosis corresponden a una etapa de sedación profunda (Etapa I, Nivel 2). Los peces recuperaron sus actividades (Figura 5b) al ser sacados del anestésico en agua a 5‰ después de los 4 minutos.

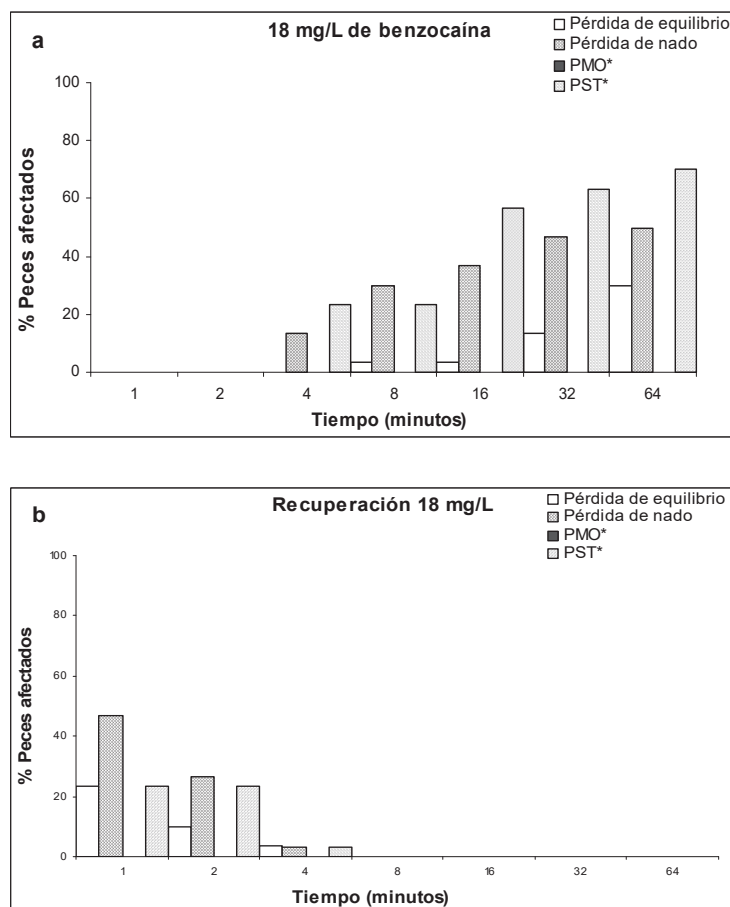


Figura 5. Porcentaje de peces afectados en el tiempo por pérdida de sus actividades y signos durante la exposición a: a) 18 mg/L de benzocaína y b) durante la recuperación en agua a 5‰. PMO*= Pérdida de movimiento opercular, PST*= Pérdida de sensibilidad al tacto.

A 21 mg/L de benzocaína (Figura 6a) se observa que el 13.3% de los peces presentaron pérdida de nado a los 2 minutos este porcentaje aumentó progresivamente a 93.3% a los 64 minutos, pérdida de sensibilidad al tacto se presentó en 3.3% de los peces a los 2 minutos este porcentaje aumentó hasta 83.4% a los 64 minutos, pérdida de equilibrio se presentó en 3.3% de los peces a los 4 minutos este porcentaje aumentó hasta 83.4% a los 64 minutos y únicamente a los 32 minutos 16.7% de peces presentaron pérdida de movimiento opercular. Los signos obtenidos con esta dosis corresponden a una etapa de anestesia ligera (Etapa II, Nivel 1).

Los peces recuperaron sus actividades (Figura 6b) al ser sacados del anestésico en agua a 5‰ después de los 8 minutos.

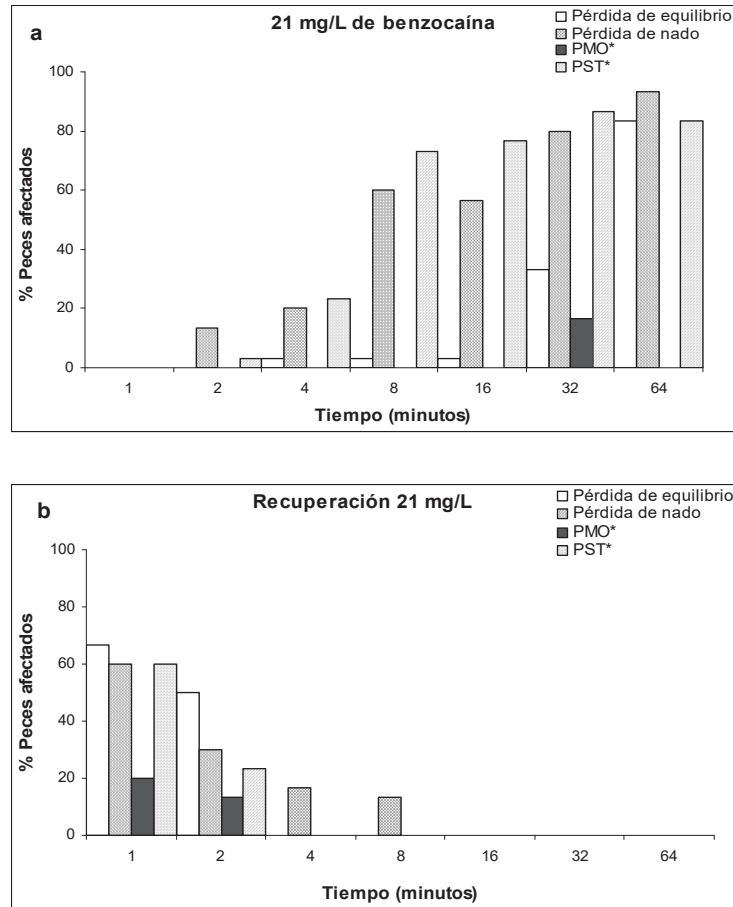


Figura 6. Porcentaje de peces afectados en el tiempo por pérdida de sus actividades y signos durante la exposición a: a) 21 mg/L de benzocaína y b) durante la recuperación en agua a 5‰. PMO*= Pérdida de movimiento opercular, PST*= Pérdida de sensibilidad al tacto.

En 24 mg/L de benzocaína (Figura 7a) se observa que el 10% de los peces presentaron pérdida de nado a los 2 minutos este porcentaje aumentó hasta 96.7% a los 64 minutos, pérdida de sensibilidad al tacto se presentó en 36.7% de los peces a los 4 minutos este porcentaje aumentó hasta 96.6% a los 64 minutos, pérdida de equilibrio se presentó en 43.3% de los peces a los 16 minutos este porcentaje aumentó hasta 100% a los 64 minutos y pérdida de movimiento opercular se presentó en 30% de los peces a los 32 minutos este porcentaje aumentó hasta 43.3% a los 64 minutos. Los signos obtenidos con esta dosis corresponden a una etapa de anestesia profunda (Etapa II, Nivel 2).

Los peces recuperaron sus actividades (Figura 7b) al ser sacados del anestésico en agua a 5‰ después de los 16 minutos.

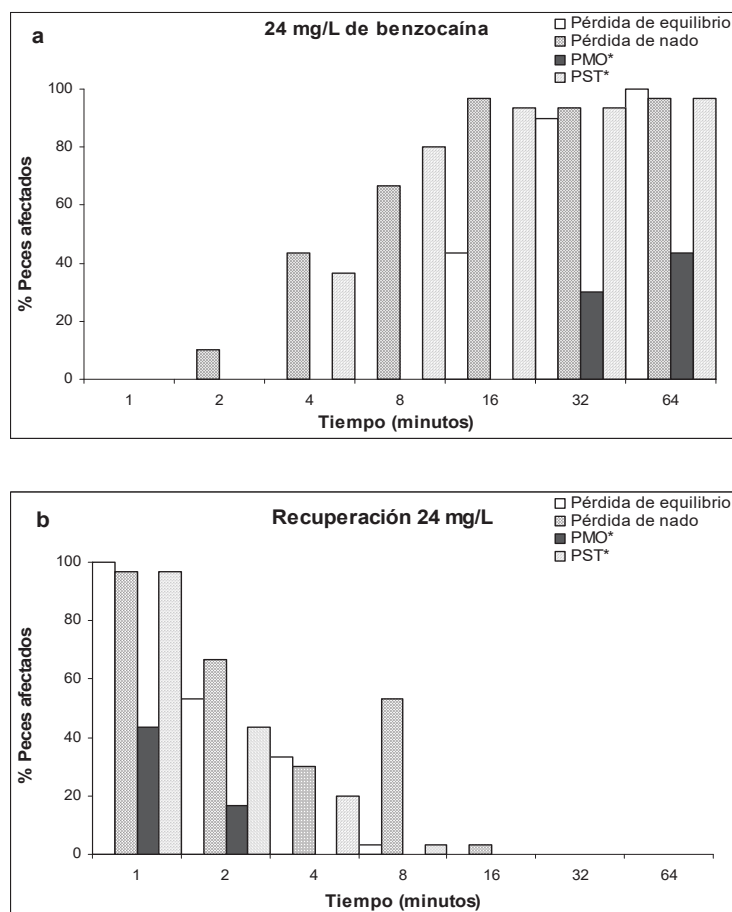


Figura 7. Porcentaje de peces afectados en el tiempo por pérdida de sus actividades y signos durante la exposición a: a) 24 mg/L de benzocaína y b) durante la recuperación en agua a 5%. PMO*= Pérdida de movimiento opercular, PST*= Pérdida de sensibilidad al tacto.

En 27 mg/L (Figura 8a) se observa que el 16.7% de los peces presentaron pérdida de nado y de sensibilidad al tacto a los 2 minutos este porcentaje aumentó hasta 100% a los 64 minutos, pérdida de equilibrio se presentó en 3.3% de los peces a los 4 minutos este porcentaje aumentó hasta 96.7% a los 64 minutos y pérdida de movimiento opercular se presentó en 16.7% de los peces a los 16 minutos este porcentaje aumentó hasta 63.3% a los 64 minutos. Los signos obtenidos con esta dosis corresponden a una transición entre anestesia quirúrgica (Etapa III) con colapso medular (Etapa IV) que lleva a los peces a la muerte.

Los peces recuperaron sus actividades (Figura 8b) al ser sacados del anestésico en agua a 5% después de los 8 minutos; murieron tres peces durante el desarrollo de experimento lo que se representa en la grafica como pérdida total de las actividades a partir de los 16 minutos hasta concluir el tiempo de observación; presentándose una supervivencia de 27 peces de los 30 originales utilizados en el tratamiento.

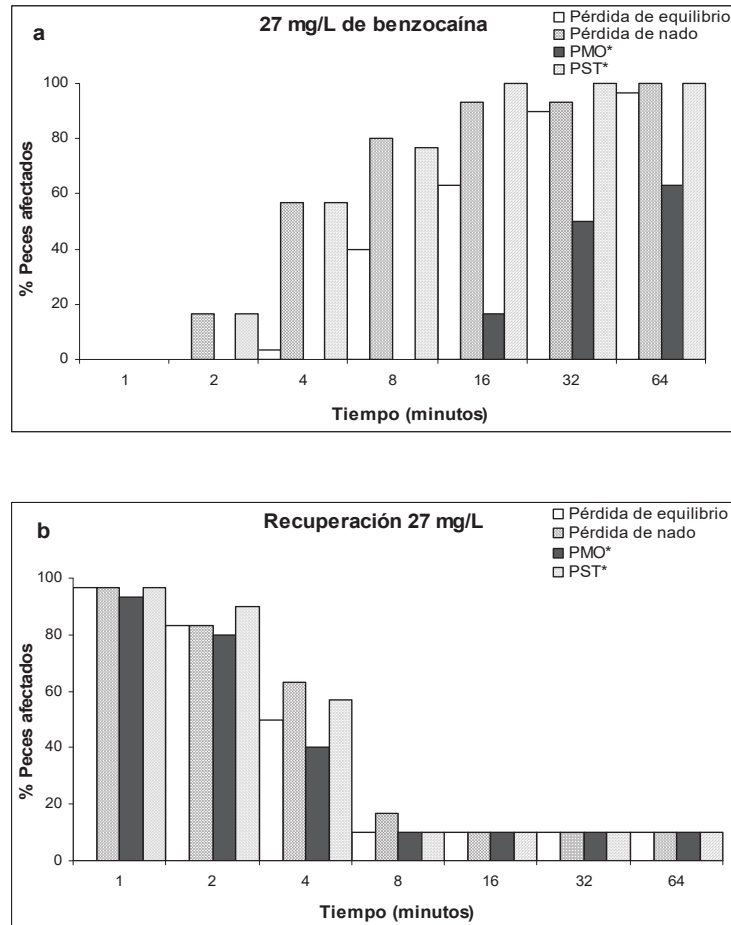


Figura 8. Porcentaje de peces afectados en el tiempo por pérdida de sus actividades y signos durante la exposición a: a) 27 mg/L de benzocaína y b) durante la recuperación en agua a 5‰. PMO*= Pérdida de movimiento opercular, PST*= Pérdida de sensibilidad al tacto.

En 30 mg/L (Figura 9a) se observa que el 73.3% de los peces presentaron pérdida de nado a los 2 minutos este porcentaje aumentó hasta 96.7% a los 64 minutos, pérdida de sensibilidad al tacto se presentó en 76.7% de los peces a 2 minutos este porcentaje aumentó hasta 100% a 64 minutos, pérdida de equilibrio se presentó en 6.6% de los peces a los 4 minutos este porcentaje aumentó hasta 96.7% a los 64 minutos y pérdida de movimiento opercular se presentó en 10% de los peces a los 8 minutos aumentó este porcentaje hasta 100% a los 64 minutos. Los signos obtenidos con esta dosis corresponden a una etapa de anestesia quirúrgica (Etapa III) en transición con colapso medular (Etapa IV) que lleva a los peces a la muerte.

Los peces recuperaron sus actividades (Figura 9b) al ser sacados del anestésico en agua a 5‰ después de los 16 minutos; murieron seis peces de los 30 del tratamiento, lo que se representa en la grafica como pérdida total de las actividades a partir de los 32 minutos

hasta concluir el tiempo de observación. La mayoría presentaron hemorragias leves y marcadas en la línea abdominal, base de aletas y cabeza, después de su exposición al anestésico.

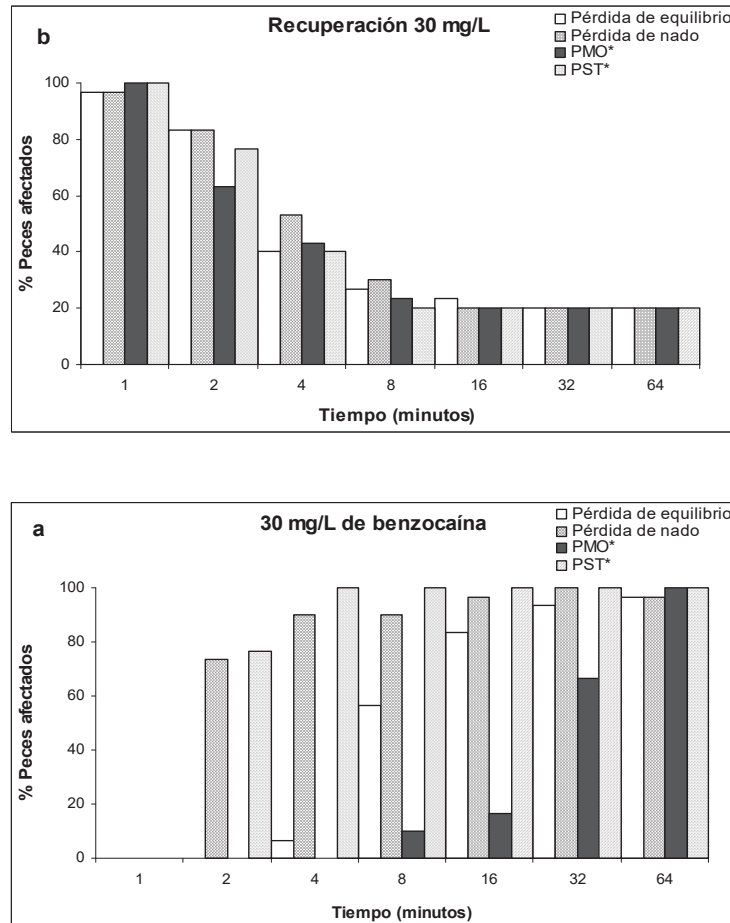


Figura 9. Porcentaje de peces afectados en el tiempo por pérdida de sus actividades y signos durante la exposición a: a) 30 mg/L de benzocaína y b) durante la recuperación en agua a 5%. PMO*= Pérdida de movimiento opercular, PST*= Pérdida de sensibilidad al tacto.

Para el tratamiento de 40 mg/L, se sacaron todos los peces a los 16 minutos con el fin de evitar la muerte de todos los organismos, dado que el 100% de los peces perdieron todas sus actividades a los 8 minutos (Figura 10a). Se observa que el 36.7% de los peces presentó pérdida de nado este porcentaje aumentó hasta el 100% a los 8 minutos, pérdida de sensibilidad al tacto se presentó en 50% de los peces al inicio este porcentaje aumentó hasta 100% a los 2 minutos, pérdida de equilibrio se presentó en 90% de peces a 1 minuto disminuye hasta 46.7% a los 2 minutos después este porcentaje aumentó hasta 100% a los 4 minutos y pérdida de movimiento opercular se presentó en 6.7% de los peces a 1 minuto este porcentaje aumentó hasta 100% a los 8 minutos.

Murieron 4 peces durante la exposición a la benzocaína y los peces que sobrevivieron recuperaron sus actividades al ser sacados del anestésico en agua a 5‰ (Figura 10b) a los 32 minutos; también presentaron fuertes hemorragias en línea abdominal, base de aletas y cabeza todos los peces.

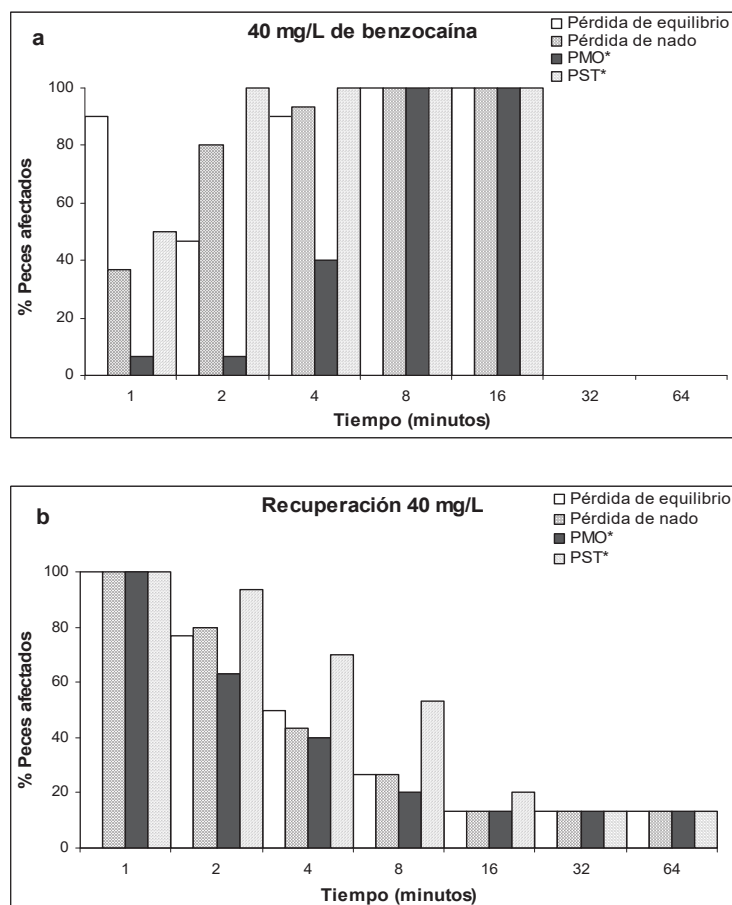


Figura 10. Porcentaje de peces afectados en el tiempo por pérdida de sus actividades y signos durante la exposición a: a) 40 mg/L de benzocaína y b) durante la recuperación en agua a 5‰. PMO*= Pérdida de movimiento opercular, PST*= Pérdida de sensibilidad al tacto.

En los testigos de cada tratamiento en agua a 5‰ no se presentaron efectos en las actividades y signos por lo cual los peces presentaron un estado normal en su comportamiento. Los peces que fueron sometidos a cada tratamiento después de ser utilizados se regresaron al tanque de recepción y después de una semana no presentaron infecciones por hongos.

6.2. Hipotermia

A 21°C, se observa que el 3.3% de los peces presentaron pérdida de nado a los 32 minutos; este porcentaje aumentó hasta 30% a los 90 minutos y después disminuyó hasta 10% a los 64 minutos (Figura 11a). La pérdida de sensibilidad al tacto se presentó en 3.3% de los peces a los 32 minutos y permanece constante hasta los 120 minutos. A esta temperatura no se describe ninguna etapa de anestesia.

Los peces recuperaron sus actividades durante el tiempo de aclimatación después de los 4 minutos (Figura 11b).

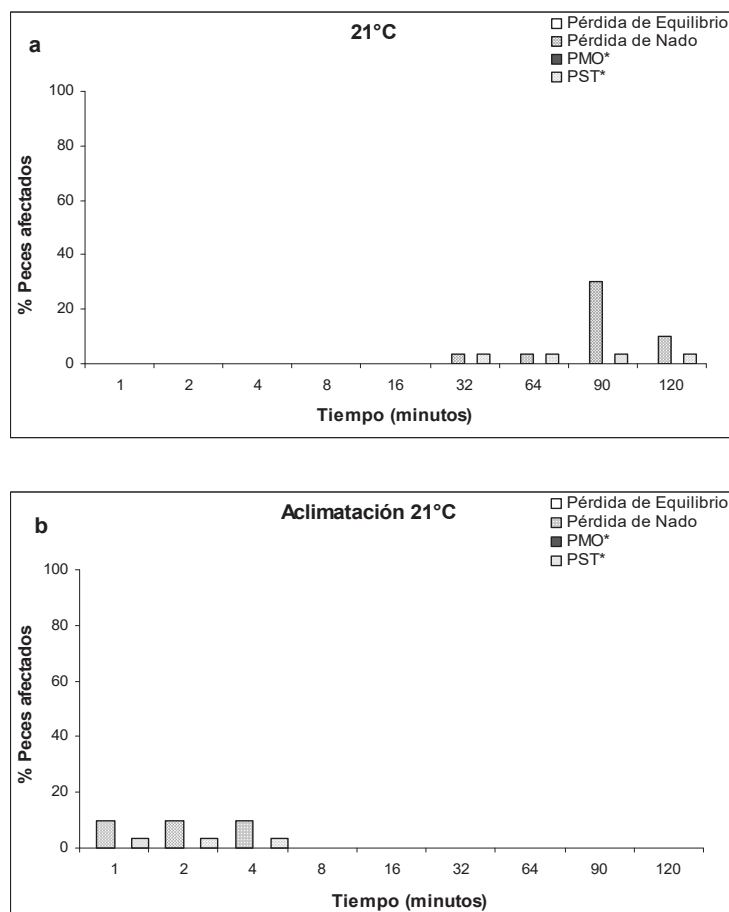


Figura 11. Porcentaje de peces afectados en el tiempo por pérdida de sus actividades y signos durante la exposición a hipotermia: a) temperatura de 21°C y b) aclimatación en agua a 5‰ a 22.8°C (temperatura ambiente). PMO*= Pérdida de movimiento opercular, PST*= Pérdida de sensibilidad al tacto.

A 18°C, se observa que el 3.3% de los peces presentaron pérdida de nado a los 90 minutos, mientras que la pérdida de sensibilidad al tacto se presentó en 13.3% de los peces a los 16 minutos y aumentó hasta el 30% a los 32 minutos aunque después disminuyó en los siguientes periodos de tiempo hasta el 10% (Figura 12a). En esta temperatura no se describe ninguna etapa de anestesia.

Los peces se recuperan de pérdida de sensibilidad al tacto (Figura 12b) durante el tiempo de aclimatación después de 1 minuto.

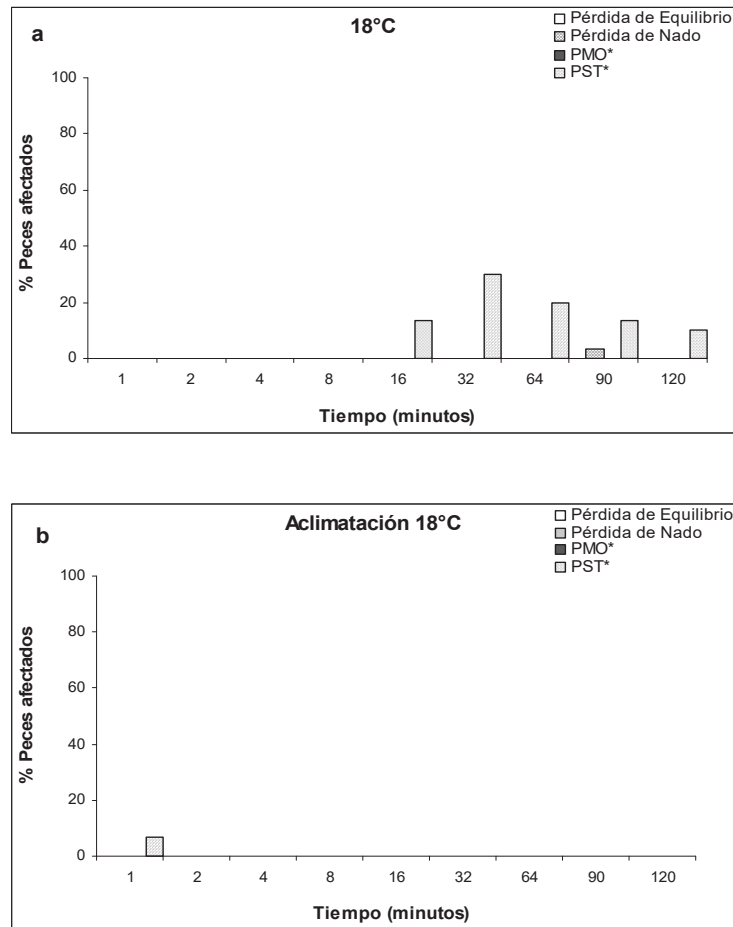


Figura 12. Porcentaje de peces afectados en el tiempo por pérdida de sus actividades y signos durante la exposición a hipotermia: a) temperatura de 18°C y b) aclimatación en agua a 5‰ a 22°C (temperatura ambiente). PMO*= Pérdida de movimiento opercular, PST*= Pérdida de sensibilidad al tacto.

A 15°C, se observa que el 100% de los peces presentaron pérdida de nado a los 2 minutos aunque este porcentaje disminuyó hasta el 66.7% a los 120 minutos (Figura 13a). La pérdida de sensibilidad al tacto se presentó en 23.3% de los peces a 1 minuto y posteriormente aumentó hasta valores entre 77 a 83.3% a partir de los 4 minutos. A esta temperatura se encontró que se induce la etapa de sedación profunda (Etapa I, Nivel 2). Los peces se recuperan de la pérdida de nado y sensibilidad al tacto al cabo de los 32 minutos durante el tiempo de aclimatación (Figura 13b).

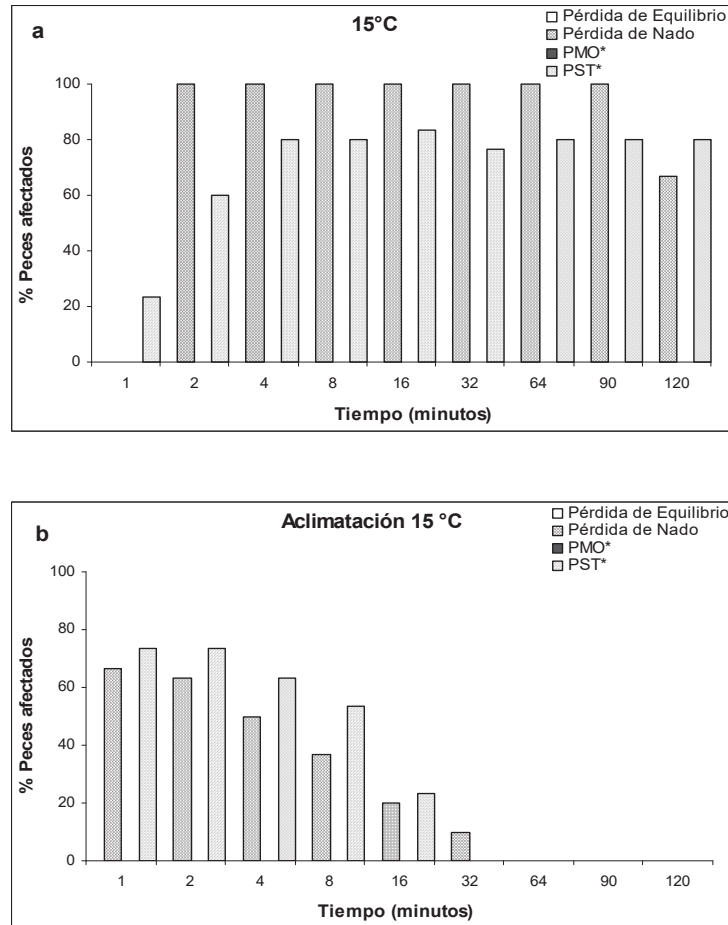


Figura 13. Porcentaje de peces afectados en el tiempo por pérdida de sus actividades y signos durante la exposición a hipotermia: a) temperatura de 15°C y b) aclimatación en agua a 5‰ a 21°C (temperatura ambiente). PMO*= Pérdida de movimiento opercular, PST*= Pérdida de sensibilidad al tacto.

A 12°C, se observa que el 100% de los peces presentaron pérdida de nado y pérdida de sensibilidad al tacto a 1 minuto este porcentaje se mantiene prácticamente a lo largo de los 120 minutos (Figura 14a). El 3.3% de los peces presentaron pérdida de equilibrio y movimiento opercular a los 32 minutos este porcentaje aumentó 6.7% a los 90 minutos manteniéndose hasta el final. En esta temperatura se describe una etapa de sedación profunda (Etapa I, Nivel 2) e inicia transición con anestesia ligera (Etapa II, Nivel 1). Los peces se recuperaron sus actividades al cabo de los 90 minutos durante el tiempo de aclimatación (Figura 14b).

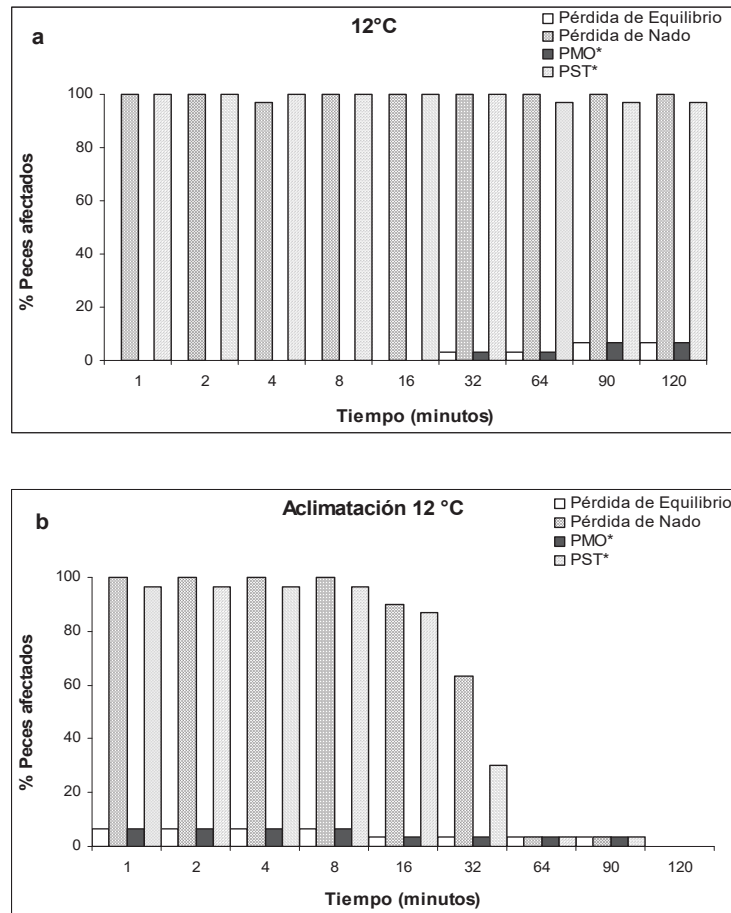


Figura 14. Porcentaje de peces afectados en el tiempo por pérdida de sus actividades y signos durante la exposición a hipotermia: a) temperatura de 12°C y b) aclimatación en agua a 5% a 22°C (temperatura ambiente). PMO*= Pérdida de movimiento opercular, PST*= Pérdida de sensibilidad al tacto.

A 9°C, la pérdida de sensibilidad al tacto se observa en 100% de los peces desde el inicio y hasta el final del periodo evaluado, mientras que la pérdida de nado se presentó en 90% y 100% de los peces desde 1 a 8 minutos, para después disminuir a valores entre 50% y 76.7% desde los 16 a los 120 minutos (Figura 15a). Se presentó pérdida de movimiento opercular en 56.7 a 66.7% de los peces desde 1 a 4 minutos, pero posteriormente disminuyó hasta el 30% a los 120 minutos. La pérdida de equilibrio se presentó en 26.7 a 33.4% de los peces entre 1 y 16 minutos, pero posteriormente disminuyó a menos de 10% a partir de los 32 minutos. A esta temperatura se identifica una etapa de anestesia ligera (Etapa II, Nivel 1).

Los peces se recuperan sus actividades al cabo de los 90 minutos durante el tiempo de aclimatación (Figura 15b), un pez murió al siguiente día del experimento.

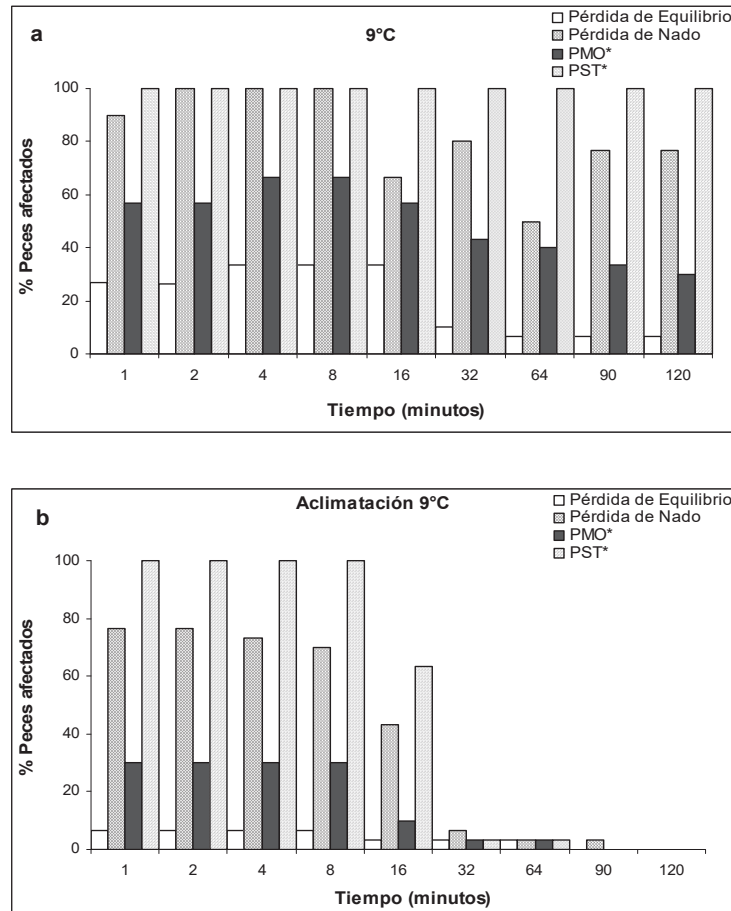


Figura 15. Porcentaje de peces afectados en el tiempo por pérdida de sus actividades y signos durante la exposición a hipotermia: a) temperatura de 9°C y b) aclimatación en agua a 5‰ a 22°C (temperatura ambiente). PMO*= Pérdida de movimiento opercular, PST*= Pérdida de sensibilidad al tacto.

Se observó en el testigo a temperatura ambiente de cada tratamiento después de ser expuestos a las temperaturas de 21, 18, 15, 12 y 9°C en agua a 5‰ de salinidad que los organismos se encuentran en estado normal durante cada experimento sin presentarse un efecto en sus actividades y signos.

6.3. Benzocaína e hipotermia

Se observa a 18 mg/L de benzocaína y 12°C (Figura 16a) que el 80% de los peces presentaron pérdida de nado a los 4 minutos este porcentaje aumentó hasta 100% a los 90 minutos, pérdida de sensibilidad al tacto se presentó en 33.3% de los peces a 1 minuto este porcentaje aumentó hasta 100% a los 2 minutos manteniéndose hasta el final, pérdida de equilibrio se presentó en 6.7% de los peces a los 4 minutos este porcentaje aumentó hasta 100% a los 90 minutos y pérdida de movimiento opercular se presentó en 53.3% de los peces a 32 minutos y aumentó 100% a los 64 minutos manteniéndose hasta los 120 minutos. Los signos obtenidos con esta dosis corresponden a una etapa de anestesia profunda (Etapa II, Nivel 2).

Los peces recuperaron sus actividades al cabo de los 32 minutos (Figura 16b).

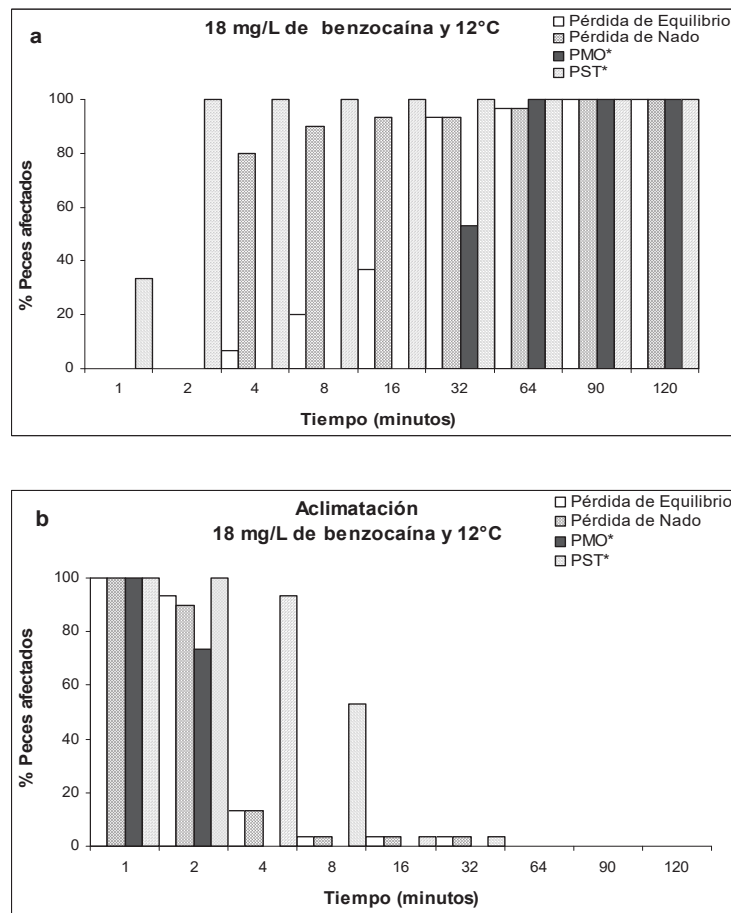


Figura 16. Porcentaje de peces afectados en el tiempo por pérdida de sus actividades y signos durante la exposición a la combinación de benzocaína e hipotermia: a) 18 mg/L de benzocaína y 12°C; b) aclimatación en agua a 5% a 21.5°C, temperatura ambiente. PMO*= Pérdida de movimiento opercular, PST*= Pérdida de sensibilidad al tacto.

En 15 mg/L de benzocaína y 12°C se observa que el 70% de los peces presentaron pérdida de nado a los 8 minutos este porcentaje aumentó progresivamente hasta 100% a los 120 minutos (Figura 17a). La pérdida de sensibilidad al tacto se presentó en 96.7% de los peces a 1 minuto y disminuyó hasta 93.3% a los 8 minutos aunque después aumentó 100% a los 64 minutos manteniéndose hasta los 120 minutos, pérdida de movimiento opercular se presentó en 46.7% de los peces a los 8 minutos aumentó progresivamente hasta 100% a los 120 minutos y pérdida de equilibrio se presentó en 3.3% de los peces a 8 minutos este porcentaje aumentó hasta 100% a los 120 minutos. Los signos obtenidos con esta dosis corresponden a una etapa de anestesia de anestesia profunda (Etapa II, Nivel 2). Los peces recuperaron sus actividades al cabo de los 32 minutos (Figura 17b).

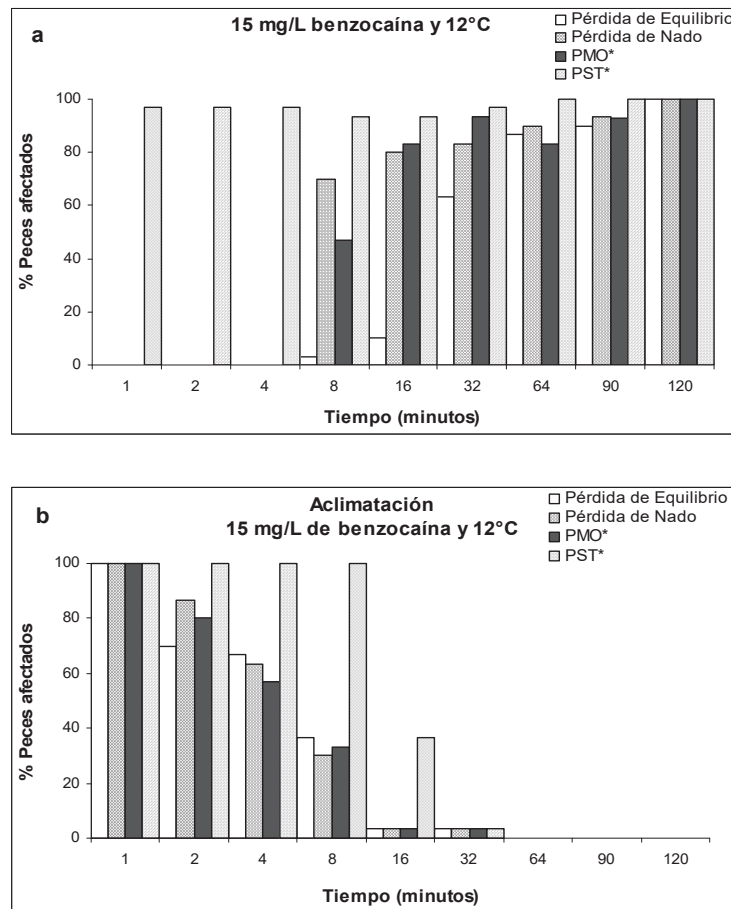


Figura 17. Porcentaje de peces afectados en el tiempo por pérdida de sus actividades y signos durante la exposición a la combinación de benzocaína e hipotermia: a) 15 mg/L de benzocaína y 12°C; b) aclimatación en agua a 5% a 22°C, temperatura ambiente. PMO*= Pérdida de movimiento opercular, PST*= Pérdida de sensibilidad al tacto.

En 12 mg/L de benzocaína y 12°C se observa que el 36.7% de los peces presentaron pérdida de nado a 1 minuto este porcentaje aumentó hasta 100% a los 120 minutos, pérdida de sensibilidad al tacto se presentó en 66.7% de los peces a 1 minuto este porcentaje

aumentó hasta 100% a 2 minutos manteniéndose hasta 120 minutos y pérdida de equilibrio se presentó en 3.3% de los peces a 1 minuto este porcentaje aumentó hasta 26.7% a los 120 minutos (Figura 18a). Los signos obtenidos con esta dosis corresponden a una etapa de anestesia ligera (Etapa II, Nivel 1).

Los peces recuperan sus actividades al cabo de a los 8 minutos (Figura 18b).

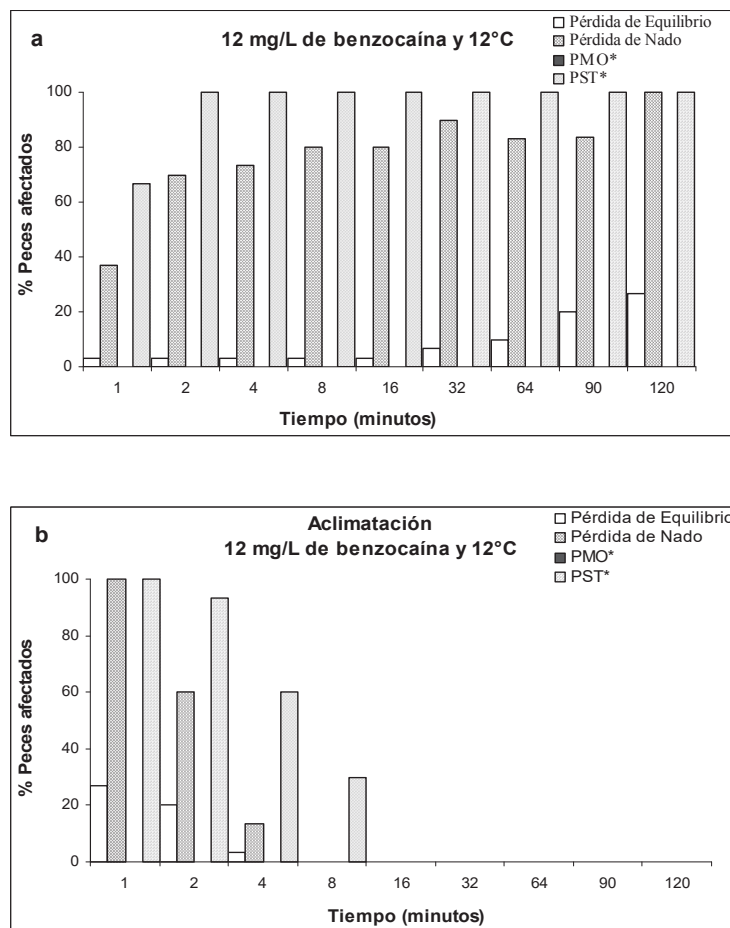


Figura 18. Porcentaje de peces afectados en el tiempo por pérdida de sus actividades y signos durante la exposición a la combinación de benzocaína e hipotermia: a) 12 mg/L de benzocaína y 12°C; b) aclimatación en agua a 5‰ a 21°C, temperatura ambiente. PMO*= Pérdida de movimiento opercular, PST*= Pérdida de sensibilidad al tacto.

En 9 mg/L de benzocaína y 12°C se observa que el 10% de los peces presentaron pérdida de nado a los 4 minutos y aumentó hasta 70% a los 64 minutos aunque después disminuyó hasta 43.3% a los 120 minutos (Figura 19a). La pérdida de sensibilidad al tacto se presentó en 100% de los peces manteniéndose hasta los 120 minutos, pérdida de movimiento opercular se presentó en 3.3% de los peces a 32 minutos este porcentaje aumentó hasta 10% a 120 minutos y pérdida de equilibrio se presentó en 6.7% de los peces a 64 minutos este

porcentaje aumentó hasta 10% a 120 minutos. Los signos obtenidos con esta dosis corresponden a una etapa de anestesia ligera (Etapa II, Nivel 1).

Los peces recuperan sus actividades al cabo de los 8 minutos (Figura 19b).

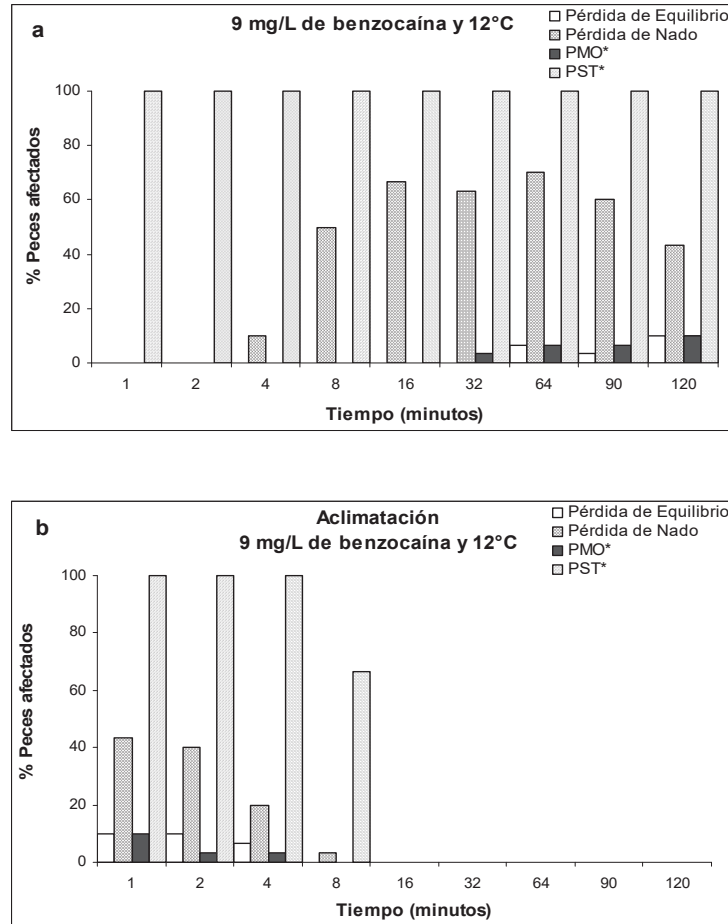


Figura 19. Porcentaje de peces afectados en el tiempo por pérdida de sus actividades y signos durante la exposición a la combinación de benzocaína e hipotermia: a) 9 mg/L de benzocaína y 12°C; b) aclimatación en agua a 5‰ a 22°C, temperatura ambiente. PMO*= Pérdida de movimiento opercular, PST*= Pérdida de sensibilidad al tacto.

En 18 mg/L de benzocaína y 15°C se observa que el 20% de los peces presentaron pérdida de nado a los 8 minutos y aumentó hasta 90% a los 90 minutos aunque después disminuyó a 83.3% a los 120 minutos (Figura 20a). La pérdida de sensibilidad al tacto se presentó en 100% de los peces a 1 minuto permaneciendo constante hasta los 120 minutos, pérdida de equilibrio se presentó en 10% de los peces a los 32 minutos este porcentaje aumentó hasta 70% a 120 minutos y pérdida de movimiento opercular se presentó en 43.3% de los peces a 64 minutos este porcentaje aumentó hasta 60% a los 120 minutos. Los signos obtenidos con esta dosis corresponden a una etapa de anestesia profunda (Etapa II, Nivel 2).

Los peces recuperaron sus actividades al cabo de los 8 minutos (Figura 20b).

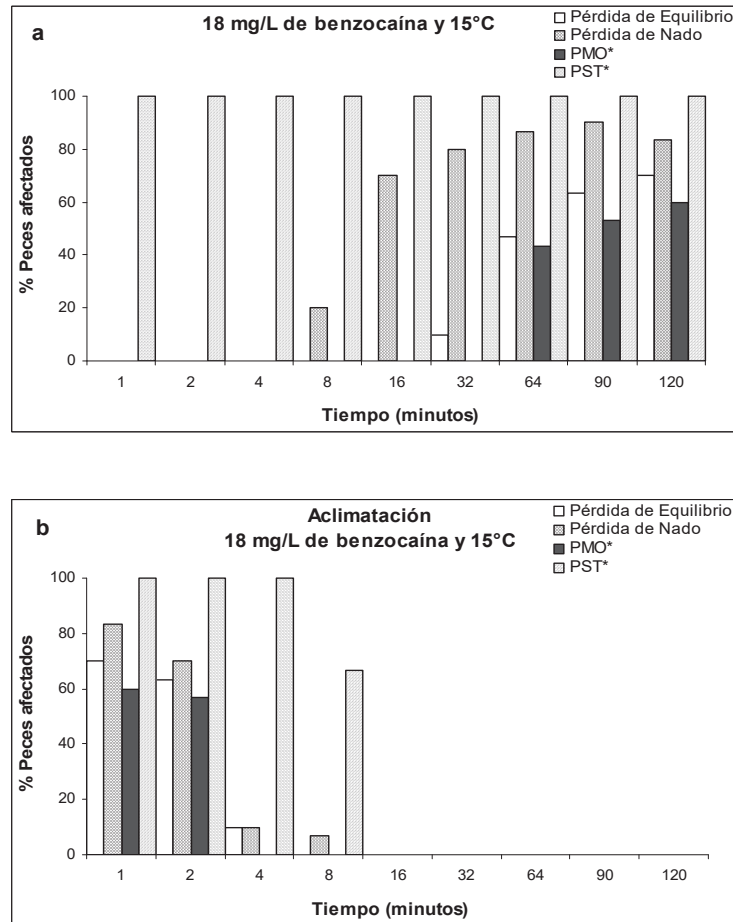


Figura 20. Porcentaje de peces afectados en el tiempo por pérdida de sus actividades y signos durante la exposición a la combinación de benzocaína e hipotermia: a) 18 mg/L de benzocaína y 15°C; b) aclimatación en agua a 5‰ a 22°C, temperatura ambiente. PMO*= Pérdida de movimiento opercular, PST*= Pérdida de sensibilidad al tacto.

En 15 mg/L de benzocaína y 15°C se observa que el 46.7% de los peces presentaron pérdida de movimiento en nado a los 16 minutos y aumentó hasta 86.7% a los 90 minutos aunque después disminuyó hasta 80% a los 120 minutos (Figura 21a). La pérdida de sensibilidad al tacto se presentó en 90% de los peces a los 2 minutos, aumentó hasta 100% a los 4 minutos permaneciendo constante hasta los 120 minutos; y pérdida de equilibrio se presentó en 6.7% de los peces a los 64 minutos este porcentaje aumentó hasta 26.7% a los 90 minutos permaneciendo constante hasta los 120 minutos. Los signos obtenidos con esta dosis corresponden a una etapa de anestesia ligera (Etapa II, Nivel 1).

Los peces recuperaron sus actividades al cabo de los 8 minutos (Figura 21b)

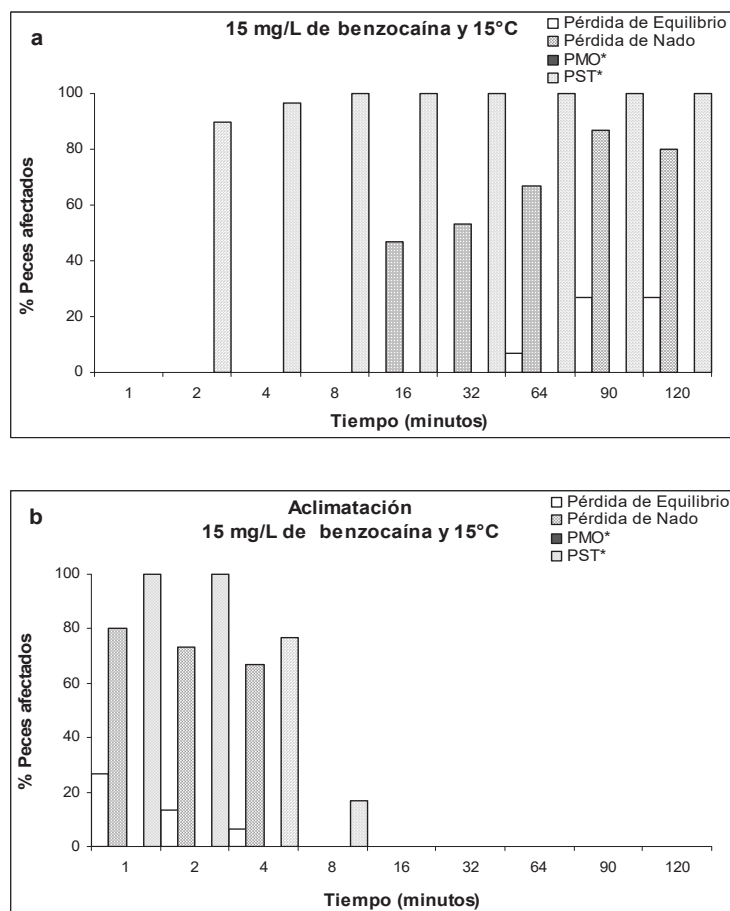


Figura 21. Porcentaje de peces afectados en el tiempo por pérdida de sus actividades y signos durante la exposición a la combinación de benzocaína e hipotermia: a) 15 mg/L de benzocaína y 15°C; b) aclimatación en agua a 5% a 22.5°C, temperatura ambiente. PMO*= Pérdida de movimiento opercular, PST*= Pérdida de sensibilidad al tacto.

En 12 mg/L de benzocaína y 15°C se observa que el 10% de los peces presentaron pérdida de nado a los 4 minutos y aumentó hasta el 76.7% a los 64 minutos aunque después disminuyó hasta 63.3% a los 120 minutos y el 100% de los peces presentaron pérdida de sensibilidad al tacto a 1 minuto este porcentaje permanece constante hasta de los 120 minutos (Figura 22a). Los signos obtenidos con este tratamiento corresponden a una etapa de sedación profunda (Etapa I, Nivel 2).

Los peces recuperaron sus actividades completamente después de los 8 minutos (Figura 22b).

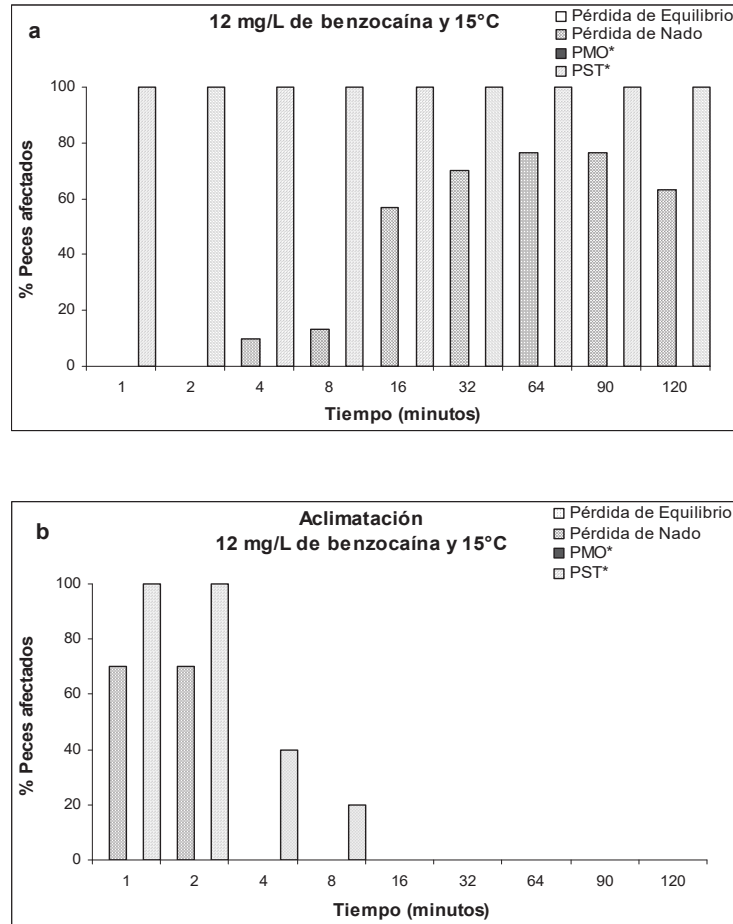


Figura 22. Porcentaje de peces afectados en el tiempo por pérdida de sus actividades y signos durante la exposición a la combinación de benzocaína e hipotermia: a) 12 mg/L de benzocaína y 15°C; b) aclimatación en agua a 5‰ a 23°C, temperatura ambiente. PMO*= Pérdida de movimiento opercular, PST*= Pérdida de sensibilidad al tacto.

En 9 mg/L de benzocaína y 15°C se observa que el 16.7% de los peces presentaron pérdida de nado a 1 minuto hasta 43.3% a los 90 minutos después disminuyó hasta 33.3% a los 120 minutos (Figura 23a). La pérdida de sensibilidad al tacto se presentó en 100% de los peces a 1 minuto permaneció constante hasta los 120 minutos. Los signos obtenidos con esta dosis corresponden a una etapa de sedación profunda (Etapa I, Nivel 2) no bien diferenciada.

Los peces recuperaron sus actividades al cabo de los 8 minutos (Figura 23b).

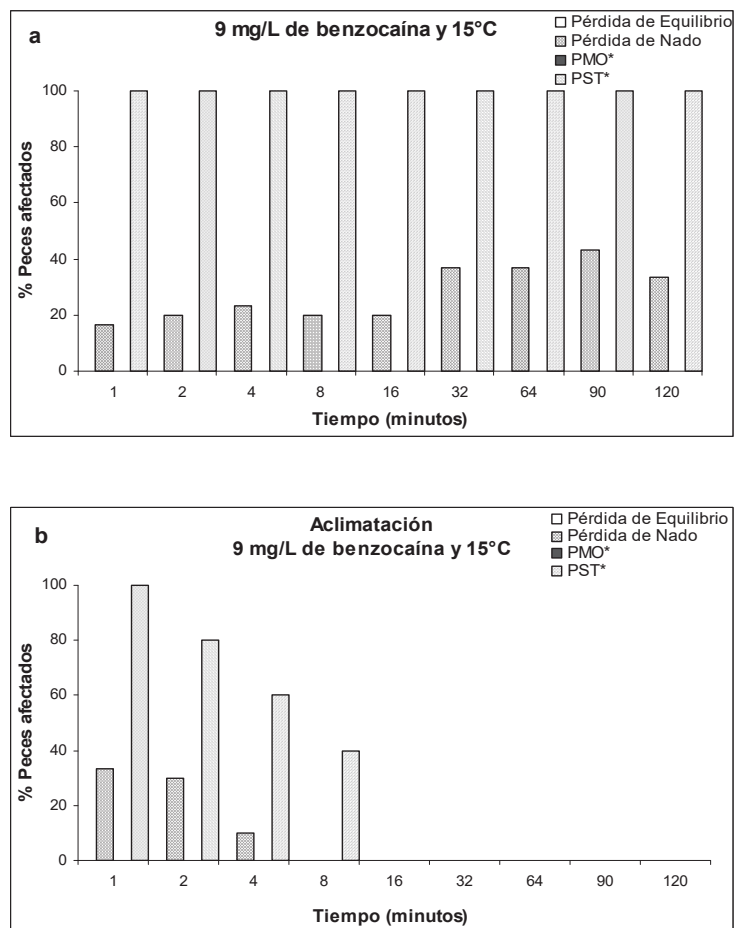
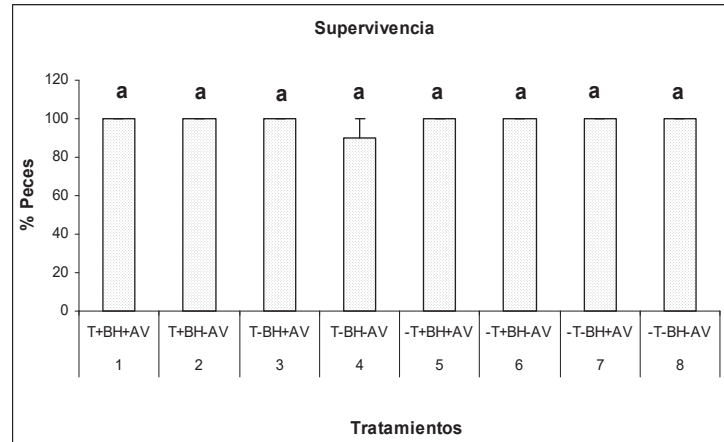


Figura 23. Porcentaje de peces afectados en el tiempo por pérdida de sus actividades y signos durante la exposición a la combinación de benzocaína e hipotermia: a) 9 mg/L de benzocaína y 15°C; b) aclimatación en agua a 5‰ a 23°C, temperatura ambiente. PMO*= Pérdida de movimiento opercular, PST*= Pérdida de sensibilidad al tacto.

6.4. Transporte por 3:30 horas

No se encontraron diferencias significativas ($P>0.05$) en supervivencia de los juveniles de *C. estor estor* entre los ocho tratamientos (Figura 24); a pesar de que en el tratamiento (4) transporte sin benzocaína e hipotermia y sin *A. vera* se murieron 3 peces durante el



transporte.

Figura 24. Supervivencia de juveniles de *C. estor estor* durante el transporte de 3:30 horas en los diferentes tratamientos: T= Transporte, -T= Sin Transporte, +BH= Benzocaína e hipotermia, -BH= Sin benzocaína e hipotermia, +AV= *A. vera*, -AV= Sin *A. vera*; (los valores son las medias $\pm$ SE, n=24 réplicas). Las letras iguales de las barras no presentan diferencia significativa ($P>0.05$).

Se determinó el efecto a los 0 minutos después del transporte por 3:30 horas en las actividades y signo, que presentaron los niveles de actividad (normal, inseguro, pérdida parcial y total); se realizó el análisis de ANOVA de una vía. Se graficaron los valores de las medias y error estándar del porcentaje de peces que presentó algún nivel de actividad y signo en cada tratamiento después del transporte.

A 0 minutos después del transporte los efectos en actividades y signos desaparecieron al aumentar la temperatura progresivamente durante el tiempo de aclimatación en las bolsas; se observó que los peces pasaron de sedación profunda a sedación ligera y al ser liberados en las tinas de recepción recuperaron sus actividades inmediatamente; mientras que a 2, 24 y 48 horas no se presentaron efectos por el transporte en actividades y signo.

Los peces de los tratamientos 3, 4, 7 y 8 presentaron movimiento opercular normal a diferencia de los tratamientos 1, 2, 5 y 6 no hubo peces que hayan perdido esta actividad, son significativamente diferentes ($P<0.05$) de los tratamientos 3, 4, 7 y 8 (Figura 25).

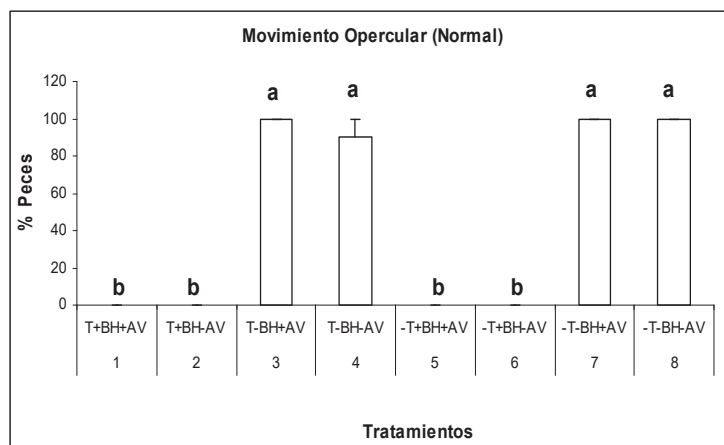


Figura 25. Porcentaje de juveniles de *C. estor estor* con movimiento opercular normal del transporte de 3:30 horas en los diferentes tratamientos: T= Transporte, -T= Sin Transporte, +BH= Benzocaína e hipotermia, -BH= Sin benzocaína e hipotermia, +AV= *A. vera*, -AV= Sin *A. vera*; (los valores son las medias $\pm$ SE, n=24 réplicas). Las letras iguales de las barras no presentan diferencia significativa ($P>0.05$).

El 100% de los peces de los tratamientos 3, 6, 7 y 8, presentaron equilibrio normal aunque se observa que el porcentaje es ligeramente menor en los tratamientos 1, 2, 4 y 5; sin embargo no se presentaron diferencias significativas ($P>0.05$) entre los tratamientos (Figura 26a).

En los tratamientos 1, 2, 4 y 5, un porcentaje mínimo de peces presentó pérdida total de equilibrio, mientras que en los tratamientos 3, 6, 7 y 8 no hubo peces que hayan perdido esta actividad, sin diferencia significativa ($P>0.05$) entre los tratamientos (Figura 26b).

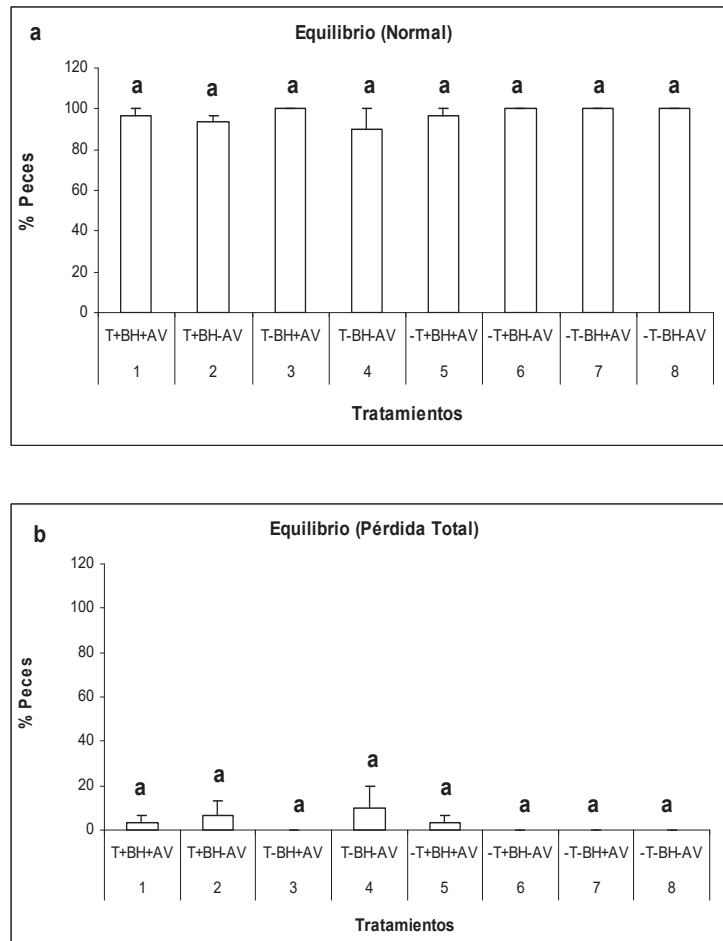


Figura 26. Porcentaje de juveniles de *C. estor estor* con equilibrio: a) normal y b) pérdida total inmediatamente después (0 minutos postransporte) del transporte de 3:30 horas en los diferentes tratamientos: T= Transporte, -T= Sin Transporte, +BH= Benzocaína e hipotermia, -BH= Sin benzocaína e hipotermia, +AV= *A. vera*, -AV= Sin *A. vera*; (los valores son las medias $\pm$ SE, n=24 réplicas). Las letras iguales de las barras no presentan diferencia significativa ($P>0.05$).

Los peces de los tratamientos 3, 4, 7 y 8 presentaron nado normal, mientras que en los tratamientos 1, 2, 5 y 6 no hubo peces que hayan perdido esta actividad, son significativamente diferentes ($P<0.05$) de los cuatro tratamientos anteriores (Figura 27a)

En los tratamientos 1, 2, 5 y 6 un porcentaje mínimo de peces presentaron nado inseguro, sin embargo son significativamente diferentes ($P<0.05$) entre ellos, mientras que en los tratamientos 3, 4, 7 y 8 no hubo peces que hayan presentado esta actividad, no hay diferencias significativas ($P>0.05$) entre ellos (Figura 27b).

Los peces de los tratamientos 1, 2, 5 y 6, presentaron pérdida parcial en nado; mientras que en los tratamientos 3, 4, 7 y 8 no hubo peces que hayan presentado esta actividad, son significativamente diferentes ($P<0.05$) de los cuatro tratamientos anteriores (Figura 27c).

Los peces de los tratamientos 3, 4, 7 y 8 presentaron sensibilidad al tacto normal; mientras que en los tratamientos 1, 2, 5 y 6 no hubo peces que presentaran este signo, son significativamente diferentes ($P<0.05$) de los cuatro tratamientos anteriores (Figura 28a).

El 100% de los peces de los tratamientos 1, 2, 4, 5 y 6 presentaron pérdida total de sensibilidad al tacto; mientras en los tratamientos 3, 7 y 8 no hubo peces que presentaran este signo, son significativamente diferentes ($P<0.05$) de los cinco tratamientos anteriores (Figura 28b).

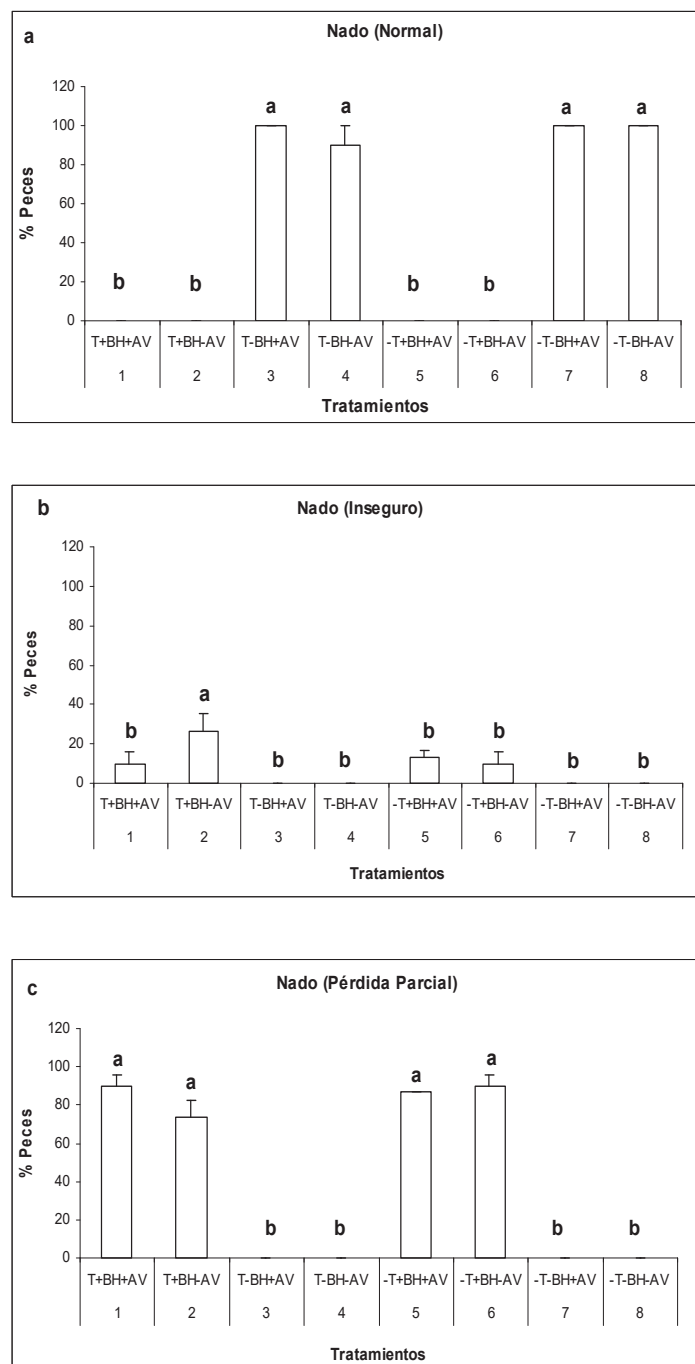


Figura 27. Porcentaje de juveniles de *C. estor estor* con nado: a) normal, b) inseguro y c) pérdida parcial inmediatamente después (0 minutos postransporte) del transporte de 3:30 horas en los diferentes tratamientos: T= Transporte, -T= Sin Transporte, +BH= Benzocaína e hipotermia, -BH= Sin benzocaína e hipotermia, +AV= *A. vera*, -AV= Sin *A. vera*; (los valores son las medias $\pm$ SE, n=24 réplicas). Las letras iguales de las barras no presentan diferencia significativa ($P>0.05$).

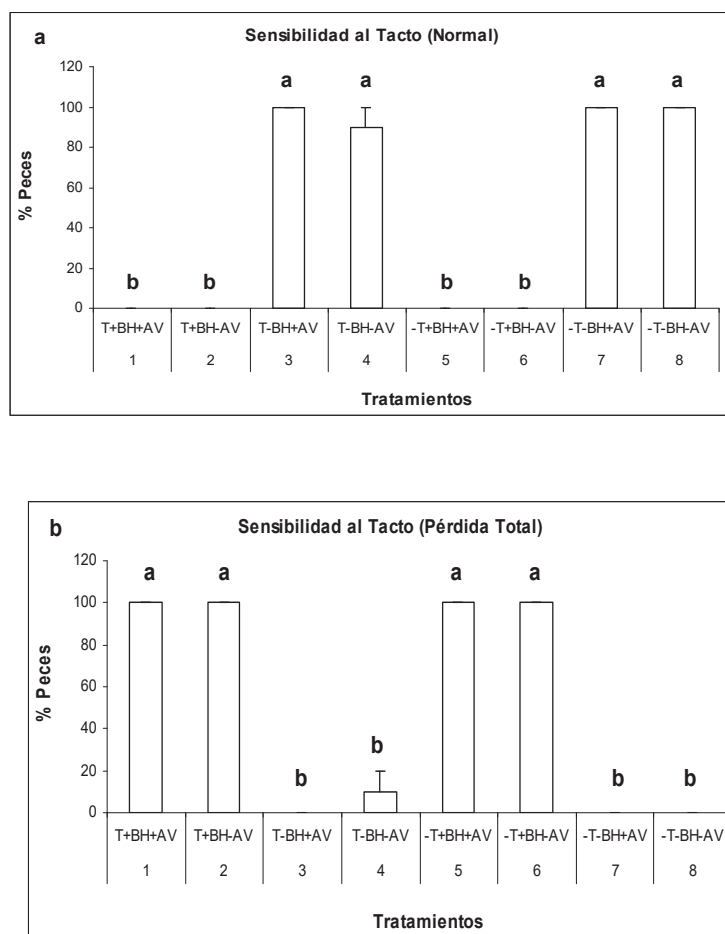


Figura 28. Porcentaje de juveniles de *C. estor estor* con sensibilidad al tacto: a) normal y b) pérdida total inmediatamente después (0 minutos postransporte) del transporte de 3:30 horas en los diferentes tratamientos: T= Transporte, -T= Sin Transporte, +BH= Benzocaína e hipotermia, -BH= Sin benzocaína e hipotermia, +AV= *A. vera*, -AV= Sin *A. vera*; (los valores son las medias $\pm$ SE, n=24 réplicas). Las letras iguales de las barras no presentan diferencia significativa ($P>0.05$).

No se encontraron diferencias significativas ($P>0.05$) en el número de escamas pérdidas por los peces (Figura 29), aunque varió el número de escamas de un tratamiento a otro, el mayor número de escamas perdidas se observó en el tratamiento 3 con *A. vera*, 4 sin *A. vera*, y 8 sin *A. vera* (Testigo). Aunque en los tratamientos 5 sin transporte, con benzocaína e hipotermia y *A. vera* y 1 transporte con benzocaína e hipotermia y *A. vera* se presentó el menor número de escamas pérdidas.

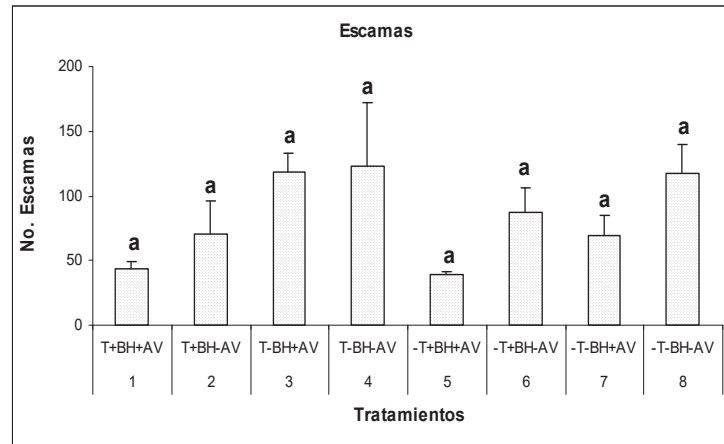


Figura 29. Número de escamas pérdidas de juveniles de *C. estor estor* durante el transporte de 3:30 horas en los diferentes tratamientos: T= Transporte, -T= Sin Transporte, +BH= Benzocaína e hipotermia, -BH= Sin benzocaína e hipotermia, +AV= *A. vera*, -AV= Sin *A. vera*; (los valores son las medias±SE, n=24 réplicas). Las letras iguales de las barras no presentan diferencia significativa ($P>0.05$).

Hemorragias de diferente intensidad se observó en boca y cabeza después del transporte, en los tratamientos: 3 (T-BH+AV), 7 (-T-BH+AV) y 8 (-T-BH-AV). No se presentaron rasgones en piel ni erosión de aletas en los peces

Tabla 4. Hemorragias en juveniles de *C. estor estor*.

Tratamientos	Peces con hemorragias	Hemorragias	
		Leves	Intensas
3 (T-BH+AV)	9	9 boca 4 cabeza	
7 (-T-BH+AV)	6	5 boca	1 boca, 1 cabeza
8 (-T-BH-AV)	8	8 boca 3 cabeza	1 entre boca y cabeza

En los tratamientos donde no se sedaron los peces para el transporte 3 (T-BH+AV) y 4 (T-BH-AV); después de las 48 horas los peces de ambos tratamientos se regresaron a los tanques de recepción, a los 2 días después presentaron infección por hongos seis peces, los cuales se aislaron para combatir el hongo en agua a 10‰ de salinidad, murieron a los 2 días de su aislamiento. También del tratamiento 7 (-T-BH+AV) un pez murió después de las 48 horas postransporte.

6.5. Transporte por 8:30 horas

Todos los peces sobrevivieron después del transporte en todos los tratamientos.

En el tratamiento 2 (T-BH-AV) de transporte sin benzocaína e hipotermia y sin *A. vera* se presentó el mayor número de escamas pérdidas, seguido por el tratamiento 1 (T+BH+AV) transporte, benzocaína e hipotermia y *A. vera*; mientras que el tratamiento 3 (-T-BH-AV) sin transporte, sin benzocaína e hipotermia y con *A. vera* (testigo) se presentó la menor cantidad de escamas pérdidas. Sin embargo las diferencias no fueron significativas ($P > 0.05$) entre los tratamientos (Figura 31).

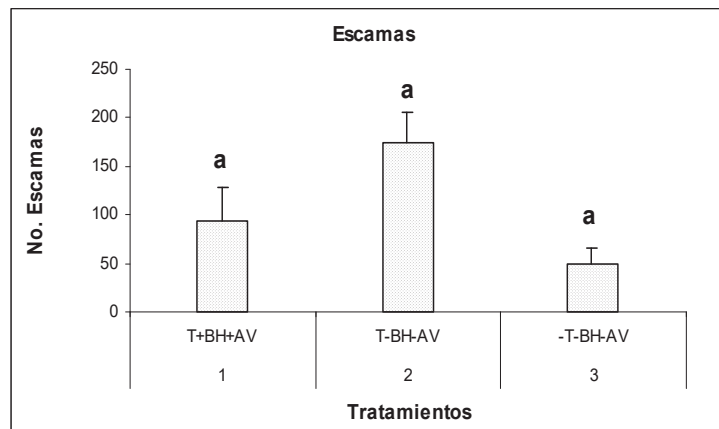


Figura 30. Número de escamas pérdidas de juveniles de *C. estor estor* durante el transporte de 8:30 horas en los diferentes tratamientos: T= Transporte, -T= Sin Transporte, +BH= Benzocaína e hipotermia, -BH= Sin benzocaína e hipotermia, +AV= *A. vera*, -AV= Sin *A. vera*; (los valores son las medias±SE, n=24 réplicas). Las letras iguales de las barras no presentan diferencia significativa ($P > 0.05$).

No se presentaron rasgones en piel ni erosión de aletas en los peces después de aplicarse los tres tratamientos. Solamente en el tratamiento 2 (T-BH-AV) se presentó infección por hongos en un pez después de 48 horas.

6.6. Tasa de consumo de oxígeno

Los resultados (Figura 31) de la tasa de consumo de oxígeno por $\text{mgO}_2 \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ de juveniles de *C. estor estor* en reposo son claramente menores, sin embargo el consumo se incrementa después de 1 y 5 minutos de la alimentación (postprandial) y este se eleva considerablemente después de 1 y 5 minutos haber provocado estrés por manipulación, así la tasa de consumo de oxígeno de los peces durante estas actividades fue significativamente diferente ($P < 0.05$).

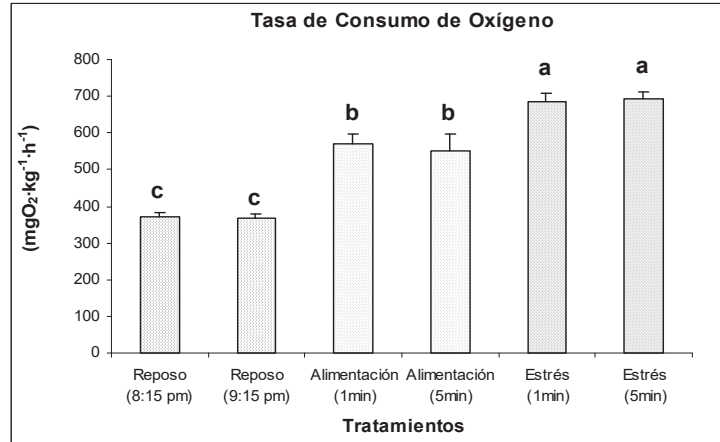


Figura 31. Tasa de consumo de oxígeno en reposo, después de 1 y 5 minutos de alimentación postprandial y de haber provocado estrés por manipulación en juveniles de *C. estor estor* (los valores son las medias $\pm$ SE, n=4 réplicas). Las letras iguales de las barras no presentan diferencia significativa ($P>0.05$).

Se presentó una tasa de consumo de oxígeno en reposo de 334.6 a 396.1 $\text{mgO}_2\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$, después 1 minuto de alimentación (postprandial) 521.2 a 639.6 $\text{mgO}_2\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ y después de 5 minutos de 450.4 a 672.0 $\text{mgO}_2\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$. Después de 1 minuto de estrés por manipulación de 649.9 a 742.9 $\text{mgO}_2\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ y después de 5 minutos 663.9 a 728.3 $\text{mgO}_2\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$.

También se observó que las tasas de consumo de oxígeno son mayores en los peces de menor peso que en los de mayor peso (Tabla 5).

Tabla 5. Promedios de tasas de consumo de oxígeno en reposo, después de alimentación postprandial y de haber provocado estrés por manipulación en juveniles de *C. estor estor*.
*datos tomados para el requerimiento de oxígeno.

Tanque	Peso Total (g)	Individuo peso promedio (g)	Flujo litro/hora	Tasa de Consumo de Oxígeno $\text{mgO}_2\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$					
				Reposo (23.9°C)		Alimentación (23.1°C)		Estrés (23.1°C)	
				8:15 pm	9:15 pm	1 min	5 min	1 min	5 min
1	143.4	7.17	116.10	396.1	388.6	639.6	672.0	655.8	663.9
2	145.7	7.29	111.35	382.1	374.5	573.2	557.9	695.4	725.9
3*	151.3	7.57	110.19	371.4	371.4	553.5	524.4	742.9	728.3
4	169.5	8.48	109.06	334.6	341.0	521.2	450.4	649.9	656.3

6.7. Tiempo de consumo de oxígeno en bolsas

Basándose en los datos de la tasa de consumo de oxígeno de 20 peces con un peso de 151.3 g después 1 minuto de estrés por manipulación que registró 742.9 $\text{mgO}_2\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$; se calculó

un requerimiento de oxígeno 790.8 mgO₂ para transportar durante 16 horas 10 peces con un peso de 75.65 g en 9 litros de agua a 5‰ (Tabla 6), el cual se añadió a cada bolsa.

Tabla 6. Cálculo práctico de requerimiento de oxígeno para juveniles de *C. esto estor* a partir de datos experimentales de respiración después de 1 minuto de estrés por manipulación.

- a)** Convertir el peso de 10 peces (de gramo a kilo)
 Peso promedio por pez = **7.565 g** x 10 peces = 75.65 g = **0.07565 kg**
- b)** Asumiendo que el agua está 100% saturada de oxígeno: ¿Cuánto oxígeno tendría en cada bolsa con 9 L de agua?
9 L de H₂O x 6 mgO₂ /L a saturación = 54 mgO₂/L (totales)
- c)** Determinar ¿Cuánto oxígeno consumirán 10 peces de 0.07565 kg durante 8 horas de transporte?
 1kg ————— 742.9 mgO₂·kg⁻¹·h⁻¹
 0.07565 kg ——— x = 56.2 x 8 horas = **449.4 mgO₂**
- d)** Al resultado, restar la cantidad de oxígeno en los 9 L de agua. Para conocer la cantidad de O₂ que se necesita introducir a cada bolsa.
 449.4 mgO₂·kg⁻¹·h⁻¹ - 54 mgO₂/L = **395.4 mgO₂·kg⁻¹·h⁻¹**
- e)** Duplicar el requerimiento de oxígeno, por seguridad **395.4 mgO₂·kg⁻¹·h⁻¹ x 2 (16 horas) = 790.8 mgO₂·kg⁻¹·h⁻¹**
- f)** Se añadió a cada bolsa **790.8 mgO₂** para simulación transporte por 16 horas

Los resultados de las evaluaciones del consumo de oxígeno de los peces en el tiempo puede observarse en las Tablas 7 y 8. La predicción del cálculo de duración del oxígeno dentro de las bolsas con 10 peces en 9 L de agua a 5‰ durante 16 horas de simulación de transporte correspondió al tiempo planteado para el tratamiento sin anestésicos (testigo).

En el tratamiento con benzocaína e hipotermia los niveles de oxígeno en el agua disminuyeron en un 22% (Tabla 7), mientras que en el tratamiento sin anestesia la disminución fue del 63.84% (Tabla 8).

La supervivencia fue afectada por el tratamiento sin anestésico (testigo) dado que se encontraron 5 peces muertos de los 30 utilizados al finalizar el tiempo establecido. Posterior a la simulación de transporte a 12 horas, se encontraron otros 6 peces muertos, a 24 horas cuatro peces muertos adicionales y 48 horas otros 2 peces muertos (Tabla 8). Por otro lado, después de las 48 horas se presentó infección por hongos en 5 peces los cuales se

aislaron y murieron a los tres días. En resumen la mortalidad acumulada durante 48 horas después del transporte fue de 73.34%. Por lo contrario, en el tratamiento con anestésicos, se presentó únicamente un pez muerto al cabo de 24 horas después de la simulación del transporte (Tabla 7), lo cual corresponde a una mortalidad acumulada de 3.3%.

Tabla 7. Datos de oxígeno y supervivencia en juveniles de *C. estor estor* a las 16 horas de simulación de transporte en el tratamiento con 12 mg/L de benzocaína e hipotermia (15°C) y postransporte (0, 12, 24 y 48 horas).

Replicas	O ₂ Inicio en el agua	O ₂ Final en el agua	Tiempo de Transporte (hrs/min)	Peces muertos postransporte			
				(0 hrs)	(12 hrs)	(24 hrs)	(48 hrs)
1	6 mg/L	5.15 mg/L	16/ 10	0	0	0	0
2	6 mg/L	4.35 mg/L	16/14	0	0	1	0
3	6 mg/L	4.56 mg/L	16/14	0	0	0	0
Promedio	6 mg/L	4.68 mg/L	16/13	0	0	0.33	0

Tabla 8. Datos de oxígeno y supervivencia de juveniles de *C. estor estor* a las 16 horas de simulación de transporte a temperatura de 22°C y postransporte (0, 12, 24 y 48 horas) en el tratamiento testigo.

Replicas	O ₂ Inicio en el agua	O ₂ Final en el agua	Tiempo de Transporte (hrs/min)	Peces muertos postransporte			
				(0 hrs)	(12 hrs)	(24 hrs)	(48 hrs)
1	6 mg/L	1.81 mg/L	16/ 00	2	2	2	1
2	6 mg/L	1.83 mg/L	16/05	2	3	1	1
3	6 mg/L	2.89 mg/L	16/10	1	1	1	0
Promedio	6 mg/L	2.17 mg/L	16/.05	1.67	2	1.33	0.66

Por otro lado, en el tratamiento sin anestésicos durante y después de la simulación de transporte los peces se mostraron muy estresados, mientras que en el tratamiento con benzocaína e hipotermia se mostraron tranquilos.

En el tratamiento con simulación de transporte sin anestésico (testigo) se encontraron en el agua de las bolsas bastantes desechos al final del tratamiento, mientras que en el tratamiento donde se aplicó benzocaína e hipotermia los desechos producidos por los peces fueron mucho menores.

6.8. Parámetros analizados

6.8.1. Análisis fisicoquímicos del agua

No se mostraron diferencias significativas en los resultados de los análisis físico-químico del agua durante el desarrollo de los experimentos: (1) Benzocaína, (2) Hipotermia y (3) Combinación de benzocaína e hipotermia.

Tabla 9. Datos del análisis fisicoquímico del agua durante el desarrollo de los experimentos (1) Benzocaína, (2) Hipotermia y (3) Combinación de benzocaína e hipotermia.

Experimentos	Benzocaína	Hipotermia	Benzocaína e Hipotermia
Temperatura (ambiente del agua)	25.2±2.7°C	23.8±2.8°C	23±2°C
Oxígeno disuelto	6±0.33 mg/L	6±0.27 mg/L	5.98±0.44 mg/L
pH	8.84±1.68	8.89±0.55	8.45±0.33
Salinidad	5 ‰	5 ‰	5 ‰

Durante el trayecto del transporte se reportaron temperaturas en el ambiente entre 18°C y 31°C.

6.8.2. Biometrías de los organismos

El peso promedio de los peces utilizados durante los experimentos (1, 2, 3, 4, 5, 7 y 8) fue de 7.688 g, longitud patrón promedio 8.89 cm, longitud estándar promedio 10.31 cm y ancho máximo promedio 1.54 cm.

Para el experimento (6) transporte de 4,848 juveniles de *C. estor estor* a Ichupio el peso promedio de los peces que se transportaron fue de 2.697 g y longitud patrón promedio de 4.3 cm.

VII. DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos permitieron determinar las concentraciones y técnicas de aplicación óptimas en el uso de benzocaína, hipotermia y su combinación como anestésicos para manipular con seguridad juveniles *C. estor estor* durante el desarrollo de proyectos de investigación, prácticas de manejo acuícola, efectuar morfometrías básicas, desoves controlados naturales o inducidos, movimientos de peces en el funcionamiento normal de una granja, su transporte a otras localidades o el aprovechamiento de poblaciones silvestres como fuente de reproductores. Los parámetros fisicoquímicos del agua en el sistema experimental permanecieron estables durante el experimento y dentro de los intervalos adecuados para la especie (Martínez- Palacios *et al.*, 2002)

Los efectos en las actividades y signos de los peces en respuesta a la exposición de las diferentes dosis de benzocaína en condiciones experimentales, permitió diferenciar una determinada etapa de anestesia de acuerdo a McFarland 1959. A 30 mg/L murieron seis peces durante los 120 minutos de exposición a la benzocaína y a 40 mg/L murieron cuatro peces en 16 minutos al cabo de los cuales el tratamiento se interrumpió para evitar la muerte masiva de los peces. En ambas dosis inicia un proceso de transición de anestesia quirúrgica que puede llevar a los peces a la muerte, lo cual corresponde con una etapa IV conocida como colapso medular, encontrándose traumas graves como: hemorragias en cabeza, base de aletas y línea abdominal en todos los peces. Se produce hemólisis de los eritrocitos de la sangre en altas concentraciones de benzocaína por las interacciones hidrofóbicas del anestésicos en las membranas, ocasionando cambios en la organización de los fosfolípidos de la membrana provocando hemólisis (De Matos Alves *et al.*, 2000). Las actividades que primero se pierden cuando los peces son introducidos a las diferentes concentraciones de benzocaína en orden son nado, sensibilidad al tacto, equilibrio y movimiento opercular; las cuales se recuperan completamente de la acción del anestésico inversamente iniciando con movimiento opercular, equilibrio, sensibilidad al tacto y nado. Se observó que en los peces expuestos a benzocaína se presentó ataxia, cambio de color hacía una tonalidad oscura y taquiventilación. Al aumentar las concentraciones del anestésico, se afectan las actividades de los peces en un tiempo más corto y la recuperación del efecto del anestésico es más lenta permitiendo distinguir diferentes etapas de anestesia. En el experimento de hipotermia, a las temperaturas de 21°C y 18°C los peces no mostraron efectos marcados en sus actividades y signos, por lo cual no se diferenció la etapa inicial de

anestesia debido a que estas temperaturas se encuentran dentro del intervalo de tolerancia de la especie (Martínez *et al.*, 2002). Nuestros resultados muestran que la hipotermia es efectiva en condiciones experimentales para sedación profunda a 15°C y sedación profunda en transición con anestesia ligera a 12°C, existiendo una recuperación los peces después de los 32 minutos. Durante el proceso de aclimatación a la disminución de la temperatura hasta 9°C, se observó que los peces mostraron cierto grado de estrés al alcanzar los 11°C, inferido por taquiventilación, cambio a color oscuro la piel y pérdida parcial de equilibrio. Una vez que la temperatura alcanzó los 10°C, desaparecieron estos signos sugiriendo que se había alcanzado ya el estado de anestesia. Un comportamiento similar fue observado en *O. gorbuscha* al aclimatarse a 8.5°C al pasar de 15 a 10°C: los peces se convulsionaron, la respuesta fue temporal (5-10 segundos) y rápidamente pasaron a un letargo como lo describen Hovda y Linley (2000). Este comportamiento se debió probablemente a que el tiempo de aclimatación fue demasiado corto para un intervalo de temperatura amplio de exposición, ya que el efecto de shock térmico parece estar relacionado al grado o rapidez en el cambio de temperatura en donde se pueden experimentar convulsiones (Yoshikawa *et al.*, 1989) y muerte (Badillo, 2003). Esto se observa comúnmente en peces adaptados a aguas templadas de temperaturas >20°C que son sujetos a una disminución de la temperatura entre 5 a 10°C durante un intervalo corto de tiempo. Sin embargo, se ha observado en especies de agua frías adaptadas a temperatura menores de 10°C que al ser expuestas a temperaturas cercanas a congelación gradualmente o rápidamente no logran anestesia Hovda y Linley (2000), probablemente porque la temperatura necesaria para anestesia profunda estar relacionada a la temperatura de aclimatación.

Se observa que el tiempo de cada estado de anestesia con hipotermia declinó al disminuir la temperatura y el tiempo de recuperación fue influenciado por la temperatura encontrándose directamente relacionado al tiempo de anestesia estos resultados concuerdan con los obtenidos por Hovda y Linley (2000) que muestran similares resultados con *O. gorbuscha* durante su exposición a diferentes temperaturas. La hipotermia es solo efectiva por corto tiempo como anestesia ya que los peces tienden a aclimatarse en ciertos intervalos de tiempo de acuerdo al historial térmico de la especie (Ross y Ross, 1999, Hovda y Linley 2000) este comportamiento lo observamos para el pescado blanco claramente durante su exposición a la temperatura de 9°C donde se presentó la etapa de anestesia ligera ya que los peces al final del tiempo de exposición antes de los 120 minutos se recuperaron en algunas de sus actividades perdidas al inicio de su exposición a esta temperatura, se aclimatan.

La potenciación en los efectos de una droga por la administración de otra droga se conoce como sinergismo definido como el aumento de la acción farmacológica de una droga por el empleo de otras (Charmichel, 1985). Nuestros resultados demuestran que el uso de benzocaína e hipotermia muestran un efecto sinérgico en juveniles de *C. estor estor*, dado que aumentó la eficacia de una dosis mínima efectiva de 12 mg/L de benzocaína se incrementó a una temperatura de 15°C manteniendo a los peces bajo sedación profunda. El uso de la combinación de estas dos técnicas de anestesia permite reducir la concentración de benzocaína de 15 mg/L y 18 mg/L entre 3 y 6 mg/L teniendo la misma eficacia a un costo menor, resultados similares reporta Ross y Ross (1999) en tilapia al usar hipotermia redujó la dosis efectiva del anestésico para sedación en un 30% entre 5 y 7 mg/L. A una temperatura de 15, 12 y 9°C la eficacia anestésica de las concentraciones 9, 12, 15 y 18 mg/L de benzocaína se incrementa, Iversen *et al.* (2003) encontraron resultados similares en *S. salar* expuesto a una temperatura de 5.4°C y a diferentes concentraciones de aceite de clavo, metamidato, Aquis™ y benzocaína la eficacia de los cuatro anestésicos se vió incrementada en sus concentraciones durante la exposición a esta temperatura que a la observada en temperatura ambiente.

La combinación de las técnicas de anestesia en laboratorio permitió el eficiente transporte de los peces en campo durante 3:30 y 8:30 horas dado que se facilitó el manejo y se evitó el estrés durante el proceso de empaque y durante su transporte, lo cual permitió una supervivencia del 100%. Sin embargo, en cuanto al uso de *A. vera*, al examinar los peces después de su transporte no se presentaron maltratos en piel y aletas ni se encontró diferencias significativas ($P>0.05$) en el número de escamas perdidas entre los tratamientos, por lo que no se puede determinar un efecto positivo del uso de *A. vera* con y sin transporte se concluye por este estudio que no se considera necesario su uso para el transporte de peces blancos.

En términos de supervivencia tampoco se encontraron diferencias significativas ($P>0.05$) en los tratamientos de los dos transportes aunque en el tratamiento 4 (T-BH-AV) del transporte de 3:30 horas se murieron tres peces. En los tratamientos del transporte de 3:30 horas donde no se aplicó anestésicos 3 (T-BH+AV) transporte sin benzocaína e hipotermia con *A. vera* y 4 (T-BH-AV) transporte sin benzocaína e hipotermia ni *A. vera* los peces al ser desempacados mostraron gran estrés y durante el periodo postransporte a diferencia de los otros tratamientos, posteriormente estos animales presentaron infección por hongos (10%) y en el tratamiento 2 (T-BH-AV) del transporte de 8:30 horas (3.33%) como fue

reportado para *M. chrysops* x *M. saxatilis* cuando no se emplean anestésicos (Davis y Griffin, 2004).

La técnica de anestesia benzocaína combinada con hipotermia fue efectiva y confiable al sedar los peces para el transporte lo que minimizó el estrés y no causó daños mecánicos ni afectó la supervivencia, evitando las mortalidades citadas por Solórzano (1968) y Rosas-Moreno (1970) en los transportes de *C. estor estor*. Sin embargo el *A. vera* no lo fue ya que no se observó su beneficio en los tratamientos sin anestesia y con anestesia durante el transporte.

La tasa de consumo de oxígeno $\text{mgO}_2 \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ fue significativamente diferente en reposo, después de la alimentación (postprandial) y después del estrés por manipulación. Resultados similares fueron reportados por Muusze *et al.* (1998) en *A. ocellatus* al medir las tasas de consumo de oxígeno en reposo, de rutina y después actividad a diferentes niveles de oxígeno disuelto. Asimismo, Wuenschel *et al.* (2005), en juveniles de *L. griseus*, encontró que las tasas de consumo de oxígeno fueron 3 a 4 veces mayores en peces activos que en los peces menos activos.

En *Pleuronectes plateas*, el incremento en la tasa de consumo de oxígeno después de alimentar (postprandial) esta fuertemente correlacionada con el tamaño de la porción alimenticia y composición, debido a los requerimientos de digestión y absorción, biosíntesis y almacén de nutrientes (Jobling y Davis, 1980), mientras que si se reduce la toma de alimento disminuye el consumo de oxígeno postprandial (Jobling, 1994). Pichavant *et al.* 2000 encontraron por su parte que el consumo de oxígeno después de cada alimentación es significativamente más alto en juveniles de *Scophthalmus maximus* (2 a 3 veces más) que en los no alimentados durante 7 días en oscuridad a diferentes concentraciones de oxígeno disuelto.

Nuestros resultados también indican que los peces de menor peso requieren más oxígeno por unidad de peso de cuerpo que los de mayor peso en las diferentes condiciones, lo cual ha sido previamente reportado en *C. urophthalmus* (Martínez-Palacios, 1987), *L. griseus* (Wuenschel *et al.*, 2005) y *C. gariepinus* (Conceição *et al.*, 1998). Respuestas similares se han observado previamente en larvas con saco vitelino, larvas alimentadas y juveniles de *C. gariepinus* en donde se observan correlaciones significativas en la tasa de consumo de oxígeno con el peso corporal y la toma de alimento (Conceição *et al.*, 1998).

Durante la simulación del transporte el tiempo en el cual se consume el oxígeno hasta niveles críticos correspondió al estimado, dado que se observaron peces muertos a las 16 horas en el tratamiento testigo (sin anestésico). El efecto de condiciones hipoxia se hacen aparente a niveles de oxígeno disuelto entre 2.89 y 1.81 mg/L debajo de este valor hay una declinación progresiva en el consumo de oxígeno y las posibilidades de sobrevivencia bajo este nivel son virtualmente cero, dado que *C. estor estor* no tolera bajas concentraciones de oxígeno disuelto (Martínez *et al.*, 2000).

La mortalidad que se presentó durante y después del tratamiento sin anestésico probablemente se debió al estrés al cual fueron expuestos por la simulación de transporte, que a su vez implicó un aumento en el consumo de oxígeno y por ende disminución del oxígeno disuelto hasta niveles críticos, además de una acumulación de CO₂ y amoníaco. La calidad del agua durante el transporte en sistemas cerrados es un importante factor que determina la supervivencia de peces, su deterioro ocurre rápidamente durante una o dos horas después del empaque y el subsiguiente deterioro puede ocurrir relativamente despacio (Chow *et al.*, 1994), niveles de oxígeno disuelto por consumo durante la respiración disminuyen a causa de la acumulación de bióxido de carbono el cual se comporta como ácido carbónico cuando entra en contacto con el agua, reduce el pH del ambiente y del plasma de la sangre como iones bicarbonato no tóxico, los productos de excreción incrementan los niveles de amoníaco, así elevados niveles de bióxido de carbono y NH₃-NH₄ provocan que el pH del plasma de los peces caiga cerca niveles letales provocando disturbios en las concentraciones iónicas en el plasma esto deteriora la capacidad de la hemoglobina de transportar oxígeno (McFarland y Norris, 1958; Berka, 1986; Ross y Ross, 1999; Pichavant *et al.*, 2000, Paterson *et al.*, 2003) y afectan la supervivencia de peces e incrementan la mortalidad durante el transporte al provoca una severa acidosis en peces sobrevivientes causando cambios en la química de la sangre, incluyendo elevación en el hematocrito y disturbios en el balance de electrolitos. Es importante considerar los efectos de bióxido de carbono y amonio.

En el tratamiento con anestésicos sólo un pez murió después de las 24 horas de la simulación de transporte y al cabo de 16 horas de simulación de transporte los niveles de oxígeno se mantuvieron relativamente constantes dentro de la bolsa, debido a la efectividad de la técnica de transporte que mantiene a los peces sedados y por lo tanto su metabolismo es bajo disminuyendo la tasa de consumo de oxígeno. Resultados similares se reportan en *P. reticulata* la tasa de consumo de oxígeno disminuyó durante la simulación de transporte con 2-fenoxietanol (Teo y Chen, 1993). Wedemeyer (1996) reportan que la tasa de

consumo de oxígeno de $210 \text{ mgO}_2 \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ en crías de salmón (*O. tshawytscha*) decreció durante el transporte con 10 mg/L de MS222 a $190 \text{ mgO}_2 \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$, Grøttum *et al.* (1988) la tasa de consumo de oxígeno de $64.2 \text{ mgO}_2 \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ en *Pomatoschistus sp.* disminuyó a $46.2 \text{ mgO}_2 \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ después de aplicar 10 mg/L de metamidate seguido por 1 mg/L. Hoskonen y Pirhonen (2004) durante la simulación de transporte 3 y 6 horas de exposición a sedación con aceite de clavo se redujó la tasa de consumo de oxígeno en *S. trutta*, *S. salar*, *P. fluviatilis*, *R. rutilus* y *O. mykiss*. Los anestésicos se usan en bajas dosis durante el transporte de peces para reducir el estrés fisiológico, consumo de oxígeno, el metabolismo y producción de bióxido de carbono y amoníaco (Wedemeyer, 1996; Ross y Ross, 1999; Hoskonen y Pirhonen, 2004) esto disminuye mortalidades durante y después del transporte (Hoskonen y Pirhonen, 2004) lo cual se demuestra en nuestros resultados de una manera clara con el pescado blanco de Pátzcuaro.

El incremento en el consumo de oxígeno al aumentar la temperatura fue observado por Chow *et al.* (1994) en *A. ocellaris*, Martínez y Ross (1986) en *C. urophthalmus* y en *L. rohita* se reportaron siguientes tasas de consumo de oxígeno en rutina, las cuales aumentan significativamente al aumentar la temperatura 26, 31, 33 y 36°C con 58.02, 66.04, 76.28 y 93.27 $\text{mgO}_2 \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ respectivamente Das *et al.* (2005). Por lo que se observó que a la temperatura de 22°C la cantidad de oxígeno por la respiración casi se agotó dentro de la bolsa en el tiempo estimado, lo cual no ocurrió en el tratamiento con anestésico a 15°C por el efecto de la temperatura sobre el consumo de oxígeno.

VIII. CONCLUSIONES

1. Las concentraciones encontradas más adecuadas para sedar los juveniles de *C. estor estor* son 15 mg/L y 18 mg/L de benzocaína, en un tiempo de 16 minutos y recuperación a 8 minutos.
2. A una concentración de 30 mg/L y 40 mg/L de benzocaína inicia un proceso de anestesia quirúrgica que lleva a los peces a la muerte describiendo una etapa IV conocida como colapso medular, encontrándose traumas graves como: hemorragias en cabeza, base de aletas y línea abdominal en todos los peces.

3. Cuando se usa hipotermia solamente las temperaturas más adecuadas para mantener sedados los juveniles *C. estor estor* fueron 15°C y 12°C, permitiendo una recuperación rápida de los peces a 8 minutos.
4. Los juveniles acusaron alto nivel de estrés al reducir la temperatura a 11°C en el proceso de aclimatación de 9°C y presentaron taquiventilación, cambio de color oscuro y pérdida parcial de equilibrio, al momento que la temperatura disminuyó a 10°C los peces se recuperaron del shock.
5. Se observó un efecto sinérgico por la combinación de las dos técnicas de anestesia química (benzocaína) y física (hipotermia).
6. El mejor tratamiento de la combinación benzocaína e hipotermia fue el de la temperatura de 15°C y 12 mg/L de benzocaína el cual mantuvo bajo sedación profunda a los peces y se empleó para el transporte, sin causar daños en el comportamiento y recuperación con una supervivencia del 100% durante y después del transporte.
7. Se encontraron diferencias significativas ($P < 0.05$) después 3:30 horas de transporte entre los diferentes niveles de actividad y signo presentados por los peces en los tratamientos a 0 minutos (desempaque).
8. Después de las 48 horas post-transporte de 3:30 horas se presentaron a los 4 días infección por hongos en 6 peces (10%) correspondientes a los tratamientos de transporte sin benzocaína e hipotermia 3 (T-BH+AV) y 4 (T-BH-AV).
9. No se encontraron diferencias significativas ($P > 0.05$) en supervivencia, número de escamas pérdidas por los peces y entre el uso o no del *Aloe vera* durante los transportes.
10. En el transporte de 4, 848 juveniles de *C. estor estor*, todos sobrevivieron al manejo, transporte y siembra.
11. La tasa de consumo de oxígeno de juveniles de *C. estor estor* en reposo son claramente menores, sin embargo el consumo se incrementa después de alimentación (postprandial) y se eleva considerablemente después haber provocado estrés por manipulación, así la tasa de consumo de oxígeno durante estas actividades fue significativamente diferente ($P < 0.05$).

12. Se registraron tasas de consumo de oxígeno: en reposo entre 334.6 a 396.1 $\text{mgO}_2 \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$, después 1 minuto de alimentación (postprandial) entre 521.2 a 639.6 $\text{mgO}_2 \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ y después de 5 minutos entre 450.4 a 672.0 $\text{mgO}_2 \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$. Después de 1 minuto de estrés por manipulación entre 649.8 a 742.9 $\text{mgO}_2 \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ y después de 5 minutos entre 663.9 a 728.3 $\text{mgO}_2 \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$. Los valores del consumo de oxígeno son mayores en los peces de menor peso que en los peces de mayor peso.

IX. LITERATURA CITADA

- Aguilar, J.C., Pichardo, D., Leal, M.J., Crombet, L., Penton, E., Muzio, V. y Guillen, G. 2000. Intranasal immunization using HBsAg-Acemannan formulations. *Biotechnología Aplicada* 17(2): 1-16.
- Alvarado, O.J.M. y Ruíz, A.T.S. (1996). Uso de los anestésicos MS222, xilocaína y xilocaína potenciada con bicarbonato de sodio en el manejo y transporte de pescado blanco *Chirostoma humboldtianum*, Valenciennes, 1835 (Pisces Atherinidae) de la Laguna de Zacapú, Michoacán. Tesis Profesional. UAG y ENEP-IZTACALA. Guadalajara, Jal. 158 pp.
- Allen, J.L., Vang, G., Steege, S. y Xiong, S. 1994. Solubility of benzocaine in freshwater. *The Progressive Fish-Culturist*. 56: 145-146.
- Aquilina, B. y Roberts, R. 2000. A method for inducing muscle relaxation in the abalone, *Haliotis iris*. *Aquaculture*. 190: 403-408.
- Armijo, A.O. y Sasso, L.Y. 1976. Observaciones preliminares en acuarios sobre incubación y alevinaje de aterínidos (*Chirostoma* spp.) del Lago de Pátzcuaro, Mich. Fideicomiso para el Desarrollo de la Fauna Acuática. 3: 1-13.
- Badillo, A.M. 2003. Bionergética y temperatura crítica máxima de *Bathygobius ramosus* Ginsburg 1947. Tesis de Maestría en Ciencias. Posgrado en Ciencias del Mar y Limnología. Biología Marina. UNAM. México D.F.
- Barbour, C.D. 1973. The systematics and evolution of the genus *Chirostoma* Swainson (Pisces: Atherinidae). *Tulane Studies in Zoology and Botany*. 18(3): 97-141.
- Belanger, J.M., Son, J.H., Laugero, K.D., Moberg, G.P., Doroshov S.I., Lankford S.E. y Cech, Jr. J.J. 2001. Effects of short-term management stress and ACTH injections on plasma cortisol levels in cultured white sturgeon, *Acipenser transmontanus*. *Aquaculture*. 203: 165-176.
- Bell, G.R. 1964. A guide to the properties, characteristics and uses of some general anaesthetics for fish. *Fish. Res. Bd.Can. Bull.* 148
- Berka, R. 1986. The transport of live fish. A review. EIFAC Technical paper. No.48. CECPI.FAO. Rome.Italy.52 pp.
- Bernier, N.J. y Randall, D.J. 1998. Carbon dioxide anaesthesia in rainbow trout: effects of hypercapnic level and stress on induction and recovery from anaesthetic treatment. *Journal of Fish Biology*. 52: 621-637.
- Brett, J.R. y Glass, N.R. 1973. Metabolic rates and critical swimming speeds of sockeye salmon *Oncorhynchus nerka* in relation to size and temperature. *Journal Fish Research Board Can.* 30:379-387.
- Burel, C., Ruyet, P.L.Gaumet, F., Roux, A.L., Severe, A. y Boeuf, G. 1996. Effects of temperature on growth and metabolism in juveniles turbo. *Journal Fish Biology*. 49: 678-692.
- Canfield, P.J., Quartararo, N., Griffin, D.L., Tsoukalas, G.N. y Cocaro, S.E. 1994. Haematological and biochemical reference values for captive Australian snapper *Pagrus aurus*. *Journal of fish biology*. 44: 849-856.
- Carmichael, F.J. 1985: General anaesthetics and local anaesthetics. In *Principles of Medical Pharmacology*. (H. Koalnt, W.H.E. Roschlau y E.M. Sellers, eds) Toronto. University of Toronto. 265-289 pp.
- Celada, J.D., González, J., Carral, J.M., Fernández, R., Pérez, J.R. y Sáenz-Royuela, M. 2000. Storage and transport of embryonated eggs of the signal crayfish *Pacifastacus leniusculus*. *North American Journal of Aquaculture*. 62: 308-310.

- Conceição, L.E.C., Dersjant-Li, Y. y Verreth, J.A.J. 1998. Cost of growth in larval and juvenile African catfish (*Clarias gariepinus*) in relation to growth rate, food intake and oxygen consumption. *Aquaculture*. 161:95-106.
- Criscuolo, U.E., Sampaio de Abreu, J., Cleber da Silva, C.A. y Landinez, P.M.A. 2004. Loading and transport stress of juvenile matrinxã (*Brycon cephalus*, Characidae) at various densities. *Aquaculture*. 229: 389-400.
- Chithra, P., Sajithlal, G.B. y Chandrakasan, G. 1998. Influence of *A. vera* on the healing of dermal wounds in diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*. 59: 195-201.
- Chow, P.S., Chen, T.W. y Teo L.H. 1994. Physiological responses of the common clownfish, *Amphiprion ocellaris* (Cuvier), to factors related to packaging and long-distance transport by air. *Aquaculture*. 127: 347-361.
- Das, T., Pal, A.K., Chakraborty, S.K., Manush, S.M., Sahu, N.P. y Mukherjee, S.C. 2005. Thermal tolerance, growth and oxygen consumption of *Labeo rohita* fry (Hamilton, 1822) acclimated to four temperatures. *Journal of Thermal Biology*. 30: 378-383.
- Davis, K.B. y Griffin, B.R. 2004. Physiological responses of hybrid striped bass under sedation by several anesthetics. *Aquaculture*. 233: 531-548.
- De Matos Alves, P.L., Kiyoko, Y.D., Fernández, F.L. y Paula, E. 2000. Interaction of benzocaine with model membranes. *Biophysical Chemistry*. 87: 213-223.
- Fredman, M.A. 1981. Swimming energetics of striped bass *Morone saxatilis* and bluefish *Pomatomus saltatrix*: Hydrodynamic correlates of locomotion and gill ventilation. *Journal Experimental Biology*. 90: 253-265.
- Froese, R. y Pauly, D. Eds 1999. *Fish Base* 99: Conceptos, estructura y fuente de datos. ICLARM, Manila, Filipinas. 322 pp.
- Grindlay, D. y Reynolds, T. 1986. The *A. vera* phenomenon: A review of the properties and modern uses of the leaf parenchyma gel. *Journal of Ethnopharmacology*. 16: 117-151.
- Grøttum, J.A., Erikson, U., Grasdalen, H. y Staurnes, M. 1998. In vivo ³¹P-NMR spectroscopy and respiration measurements of anaesthetized goby (*Pomatoschistus* sp.) pre-exposed to ammonia. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A*. 120: 469-475.
- Hagen T.N. 2003. KCL induced paralysis facilitates detachment of hatchery reared juvenile green sea urchins, *Strongylocentrotus droebachiensis*. *Aquaculture*. 216:155-164.
- Hayton, W.L., Szoke, A., Kemmenoe, B.H. y Vick, A.M. 1996. Disposicion of benzocaine in channel catfish. *Aquatic Toxicology*. 36: 99-113.
- He, Q., Changhong, L., Kojo, E. y Tian, Z. 2004. Quality and safety assurance in the processing of *Aloe vera* gel juice. *Food Control*. Article in press.
- Hiney, M.P., Coney, R., Kerry, J. Pursell, L., Samuelsen, O.B. y Smith, P. 1995. Failure of flumisol bath treatments during commercial transport of Atlantic salmon smolts to prevent the activation of stress inducible furunculosis. *Aquaculture*. 136: 31-42.
- Hoskonen, P. y Pirhonen, J. 2004. Short Communication: The effect of clove oil sedation on oxygen consumption of six temperate-zone fish species. *Aquaculture Research*. 35: 1002-1005.
- Hovda, J. y Linley, T.J. 1999. The potential application of hypothermia for anesthesia in adult pacific salmon. *North American Journal of Aquaculture*. 62: 67-72.
- Iversen, M., Finstad, B., McKinley, R.S. y Eliassen, R.A. 2003. The efficacy of metomidate, clove oil, Aquí-STM and Benzoak[®] as smolts, and their potential stress-reducing capacity. *Aquaculture*. 221: 549-566.
- Jobling, M. 1994. *Fish Bionergetics*. Vol. XIV. Chapman y Hall. London. 304 pp.
- Jobling, M. y Davies, P.S. 1980. Effects of feeding on metabolic rate, and the specific dynamic action in plaice *Pleuronectes platessa* L. *Journal Fish Biology*. 16:629-638.
- Kaiser, H. y Vine, N. 1998. The effect of 2-phenoxyethanol and transport packing density on the post-transport survival rate and metabolic activity in the goldfish, *Carassius auratus*. *Aquarium Sciences and Conservation*. 2: 1-7.

- Marques de Miranda, C.G.A., Egydio, B.R., Speit, G., Valenzuela, R.V.A., Luiz, V.G. y Favero, S.D.M. 2003. Anesthesia of fish with benzocaine does not interfere with comet assay results. *Genetic Toxicology and environmental mutagenesis*. 534: 165-172.
- Martínez-Palacios, C.A y Ross, L.G. 1986. The effects of temperature, body weight and hypoxia on the oxygen consumption of the mexican mojarra *Cichlasoma urophthalmus* (Günther). *Aquaculture and Fisheries Management*. 17:243-248.
- Martínez-Palacios, C.A y Ross, L.G. 1994. Biología y cultivo de la mojarra latinoamericana *Cichlasoma urophthalmus*. SEP.CONACYT.CIAD. México. 203 pp.
- Martínez-Palacios, C.A., Barriga-Tovar, E., Taylor, J.F., Ríos-Durán, M.G. y Ross, L.G. 2002b. Effect of temperature on grow and survival of *Chirostoma estor estor*, Jordan 1879, monitored using a simple video technique for remote measurement of length and mass of larval and juvenile fishes. *Aquaculture*. 209: 369-377.
- Martínez-Palacios, C.A., Racotta, D.S.I., Ríos-Durán, M.G., Palacios M.E., Toledo-Cuevas, M., y Ross, L.G. 2005. Advances: In applied research for the culture of mexican silversides (*Chirostoma*, Atherinopsidae). *Biocell*. (Aceptado).
- Martínez-Palacios, C.A., Ríos-Durán, M.G., Campos M.A., Toledo, C.M., Aguilar-Valdez, M.C. y Ross, L.G. 2002a. Progresos en el cultivo del pescado blanco de Pátzcuaro *Chirostoma estor estor*. *Ciencia Nicolaita*. Coordinación de la Investigación Científica. UMSNH. Morelia, Michoacán. México. 32: 73-97.
- McFarland, W.N. 1959. A study of the effects of anaesthetics on the behaviour and physiology of fishes. *Pub. Inst. Marine Sci*. 6: 22-55.
- McFarland, W.N. y Norris, K.S. 1958. The control of pH by buffers in fish transport. *California. Fish and Game*. 44(4) 291-310.
- Meinertz, J.R., Gigerich, W.H. y Allen, J.L. 1991. Metabolism and elimination of benzocaine by rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Xenobiotica*. 21: 525-533.
- Meinertz, J.R., Stehly, G.R., Hubert, T.D. y Bernardy, J.A. 1999. Liquid chromatographic determination of benzocaine and N-acetylbenzocaine in the edible fillet tissue from rainbow trout. *Journal Chromatography A*. 855: 255-260.
- Munday, P.L. y Wilson, S.K. 1997. Comparative efficacy of clove oil and other chemicals in anaesthetization of *Pomacentrus amboinensis* a coral reef fish. *Journal of Fish Biology*. 51: 931-938.
- Muusze, B., Marcon, J., Van den Thillart, G. y Almeida-Val, V. 1998. Review: Hypoxia tolerance of Amazon fish respirometry and energy metabolism of the cichlid *Astronotus ocellatus*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A*. 120: 151-156.
- Nikinmaa, M. 2002. Oxygen-dependent cellular functions-why fishes and their aquatic environment are a prime choice of study. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A*. 133:1-16.
- Nikinmaa, M. y Salama, A. 1998. Oxygen transport in fish. (Edited by Perry, S.f. y Tufts, B. In *Fish Respiration*) 141-184.
- Nobuyuki, O., Noriko, H., Satomi, H., Toshihiro, F., Kunihide, M., Masathoshi, N., Kazumoto, M. y Akira, Y. 1997. Diastereomeric c-glucosylanthrones of *Aloe vera* leaves. *Phytochemistry*. 45: 1519-1522.
- Okamura, N., Hine, N., Harada, S., Fujioka, T., Mihashi, K., Nishi, M., Miyahara, K. y Yagi, A. 1997. Diastereomeric C-Glucosylanthrones of *Aloe vera* leaves. *Pergamon. Phytochemistry*. 45: 1519-1522.
- Okamura, N., Hine, N., Harada, S., Fujioka, T., Mihashi, K., Nishi, M., Miyahara, K. y Yagi, A. 1996. Three chromone components from of *Aloe vera* leaves. *Pergamon. Phytochemistry*. 43: 495-498.

- Ortuño, J., Esteban, M.A. y Meseguer, J. 2002. Effects of anaesthetics on the innate immune response of gilthead seabream (*Sparus aurata* L.). *Fish y Shellfish Immunology*. 12: 49-59.
- Paterson, B.D., Rimmer, M.A., Meikle, M.G. y Semmens, G.L. 2003. Physiological responses of the Asia sea bass, *Lates calcarifer* to water quality deterioration during simulate live transport: acidosis, red-cell swelling, and levels of ions and ammonia in the plasma. *Aquaculture*. 218: 717-728.
- Pavlidis, M., Angellotti, L., Papandroulakis, N. y Divanach, P. 2003. Evaluation of transportation procedures on water quality and fry performance in red porgy (*Pagrus pagrus*) fry. *Aquaculture*. 218: 187-202.
- Petersen, J.R. y Petersen, G.I. 1990. Tolerance, behavior and oxygen consumption in the sand goby, *Pomatoschistus minus* (Pallas), exposed to hypoxia. *Journal Fish Biology*. 37: 921-933.
- Peterson, D.L. y Carline, R.F. 1996. Communications: Effects of tetracycline marking, transport density, and transport time on short-term survival of walleye fry. *The Progressive Fish-Culturist*. 58: 29-31.
- Pickering, A.D. 1993. Husbandry and stress. In *Recent advances in Aquaculture*. Vol.4 J.F. Muir & R.J. Roberts. Blackwell Science. Oxford 340 pp.
- Pichavant, K., Person-Le-Ruyet, J., Le Bayon N., Sévère, A., Le Roux, A. Quéméné, L., Máxime, V., Nonnotte, G. y Boeuf, G. 2000. Effects of hypoxia on growth and metabolism of juvenile turbot. *Aquaculture*. 188: 103-114.
- Pirhonen, J. y Schreck, C.B. 2003. Effects of anaesthesia with MS-222, clove oil and CO₂ on feed intake and plasma cortisol in steelhead trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*. 220: 507-514.
- Reynolds, T. y Dweck, A.C. 1999. *Aloe vera* leaf gel: a review update. *Journal of Ethnopharmacology*. 68: 3-37.
- Ríos, D.M.G. (2000). Actividad proteolítica en larvas de pez blanco *Chirostoma estor copandaro* (PISCES: Atherinidae): implicaciones para su cultivo. Tesis de Maestría. Facultad de Biología. UMSNH. Morelia. Mich. Méx. 53 pp.
- Rodman, T.D. 1963. Anesthetizing and air-transporting young white sturgeons. *The Progressive Fish-Culturist*. 22: 71-78.
- Rosas-Moreno, M. 1970. *Pescado Blanco Chirostoma estor*. Instituto Nacional de Investigaciones Biológico Pesqueras. Comisión Nacional Consultiva de Pesca. México. 79 pp.
- Ross, L.G. y Ross B. 1999. *Anesthetic and sedative techniques for aquatic animals*. Second edition. Institute of Aquaculture. University of Stirling. Stirling, Scotland. Blackwell Science, Oxford. 159 pp.
- Sampson, D.R.T. y Macintosh, D.J. 1986. Transportation of live carp fry in sealed polythene bags. *Aquaculture*. 54:123-127.
- Schmidt-Nielsen, K. 1997. *Animal Physiology: Adaptation and environment*. Fifth edition. Cambridge University Press. United States of America. 607 pp.
- Schreck, C.B., Jonsson, L., Feist, G. y Reno, P. 1995. Conditioning improves performance of juvenile chinook salmon, *Oncorhynchus tshawytscha*, to transportation stress*1. *Aquaculture*. 135: 99-110.
- Singh, R.K., Vartak, V.R., Balange, A.K. y Ghughuska, M.M. 2004. Water quality management during transportation of fry of Indian major carps, *Catla catla* (Hamilton), *Labeo rohita* (Hamilton) and *Cirrhinus mrigala* (Hamilton). *Aquaculture*. Article in press. 6 pp.

- Solorzano, P.A. 1963. Algunos aspectos biológicos del pescado blanco del lago de Pátzcuaro, Mich. (*Chirostoma estor*, Jordan, 1879). Instituto Nacional de Investigaciones Biológico Pesqueras. Secretaria de Industria y Comercio. 15 pp.
- Sørum, U. y Damsgård, B. 2004. Effects of anaesthetisation and vaccination on feed intake and growth in Atlantic salmon (*Salmon salar* L.). Aquaculture. 232: 333-341.
- Suckow, M.A., Terri, L.A., Grigdesby, C.F. y March, P.A. 1998. Evaluation of hypothermia-induced analgesia and influence of opioid antagonists in leopard frogs *Rana pipiens*. Pharmacology Biochemistry and Behavior. 63: 39-43.
- Tello, B.J.A. 2004. Efectos de la salinidad en la sobrevivencia de huevecillos y eclosión de larvas de pez blanco (*Chirostoma estor estor* Jordan, 1879). Tesis profesional. Facultad de Biología. UMSNH. Morelia. Mich. Méx. 42 pp.
- Teo, C.H. y Chen, T.W. 1993. A study of metabolic rates of *Poecilia reticulata* Peters under different conditions. Aquaculture and Fisheries Management. 24:109-117.
- Thetmeyer, H., Waller, U., Black, K.D., Inselmann, S. y Rosenthal, H. 1999. Growth of European sea bass *Dicentrarchus labrax* L. under hypoxic and oscillating oxygen conditions. Aquaculture. 174: 355-367.
- Thompson, J.E. 1991. Topical use of *Aloe vera* derived allantoin gel in otolaryngology. Ear. Nose and Throat Journal. 70. 56.119.
- Tipping, J.M. 1998. Communications: Return rates of transported steelhead smolts with and without a rest period before release. The Progressive Fish-Culturist. 60: 284-287.
- Wakeman, J.M. y Wohlschlag, D.E. 1981-1982. Least-cost swimming speeds and transportation costs in some pelagic estuarine fishes. Fisheries Research. 1: 117-127.
- Wedemeyer, G.A. 1996. Transportation and handling: In Principles of Salmonid Culture (ed. by W. Penell y B.A. Barton, pp. 727-758). Elsevier. Amsterdam, the Netherlands.
- Weirich, C.R., Tomasso, J.R. y Smith, T.I.J. 1992. Confinement and transport-induced stress in white bass *More chysops* X striped bass *M. saxatilis* hybrids: effect of calcium and salinity. Journal of the world aquaculture society. 23: 49-57.
- Wuenschel, M.J., Jugovich, A.R. y Hare, J.A. 2005. Metabolic response of juvenile gray snapper *Lutjanus griseus* to temperature and salinity: Physiological cost of different environments. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology. 321:145-154.
- Yamaguchi, I., Mega N. y Sanada, H. 1993. Components of the gel of *A. vera* (L.) Burm. F. Bioscience. Biotechnology. Biochemistry. 57: 1350-1352
- Yoshikawa, H., Ueno, S. y Mitsuda, H. 1989. Short and long-term cold anesthesia carp. Nippon Suistan Gakkaishi. 55:491-498.

Anexo 1. Tabla de trabajo con etapas de anestesia asociado con varios niveles de actividad modificado de (Chung 1980 y Ross 1999) para benzocaína.

BENZOCAÍNA ____mg/L **REPLICA # :** ____ **Fecha:** _____

TIEMPO	ACTIVIDAD Y SIGNO				ETAPA DE ANESTESIA McFarland 1959
	Equilibrio	Nado	Movimiento opercular	Sensibilidad al tacto	
1 min					
2 min					
4 min					
8 min					
16 min					
32 min					
64 min					

Inicio		Antes		Después	
T°		T°		T°	
pH		pH		pH	
O ₂		O ₂		O ₂	
%o		%o		%o	

N = Normal
I = Inseguro
PP = Pérdida Parcial
PT= Pérdida Total

Supervivencia: _____

Recuperación H₂O 5%

TIEMPO	ACTIVIDAD Y SIGNO				ETAPA DE ANESTESIA McFarland 1959
	Equilibrio	Nado	Movimiento opercular	Sensibilidad al tacto	
1 min					
2 min					
4 min					
8 min					
16 min					
32 min					
64 min					

Inicio		Antes		Después	
T°		T°		T°	
pH		pH		pH	
O ₂		O ₂		O ₂	
%o		%o		%o	

Supervivencia: _____

Anexo 2. Tabla de trabajo con etapas de anestesia asociado con varios niveles de actividad modificado de (Chung 1980 y Ross 1999) para hipotermia y combinación de benzocaína e hipotermia.

HIPOTERMIA _____ **T°C** **REPLICA #** : _____ **Fecha:** _____

TIEMPO	ACTIVIDAD Y SIGNO				ETAPA DE ANESTESIA McFarland 1959
	Equilibrio	Nado	Movimiento opercular	Sensibilidad al tacto	
1 min					
2 min					
4 min					
8 min					
16 min					
32 min					
64 min					
1:30 min					
2 hrs					

Inicio		Antes		Después	
T°		T°		T°	
pH		pH		pH	
O ₂		O ₂		O ₂	
%o		%o		%o	

N = Normal
I = Inseguro
PP = Pérdida Parcial
PT= Pérdida Total

Supervivencia: _____

Recuperación H₂O 5‰

TIEMPO	ACTIVIDAD Y SIGNO				ETAPA DE ANESTESIA McFarland 1959
	Equilibrio	Nado	Movimiento opercular	Sensibilidad al tacto	
1 min					
2 min					
4 min					
8 min					
16 min					
32 min					
64 min					
1:30 min					
2 hrs					

Inicio		Antes		Después	
T°		T°		T°	
pH		pH		pH	
O ₂		O ₂		O ₂	
%o		%o		%o	

Supervivencia: _____

Anexo 3. Etapas de anestesia asociado con varios niveles de actividad modificado de (Chung 1980 y Ross y Ross, 1999) para combinación de benzocaína e hipotermia durante el transporte y postransporte.

Tratamiento : _____ Fecha: _____
 Hipotermia _____ T°C Benzocaína _____ mg/L Aloe vera: S / N 9 L _____
 Tiempo de aclimatación: _____

Tiempo Minutos	T° Caja	T° H ₂ O	Volumen de Hielo	T° Ambiente
0				
15				
30				
45				
60				
75				
90				
105				
120				
135				
150				
165				
185				

Observaciones: _____

DESPUÉS DEL TRANSPORTE (Total de tres replicas)

Tiempo de aclimatación: _____
 Recuperación H₂O 5%

TIEMPO	ACTIVIDAD				ETAPA DE ANESTESIA McFarland 1959
	Equilibrio	Nado	Movimiento opercular	Sensibilidad al tacto	
0 min					
120 min					
24 hrs					
48 hrs					

N = Normal
 I = Inseguro
 PP = Pérdida Parcial
 PT= Pérdida Total

No. peces con hemorragias: _____
 Tipo de hemorragias: _____
 Aletas desgarradas: _____
 No. escamas: _____
 Después de las 24hrs y 48hrs
 Alimentación: _____
 Supervivencia: _____
 Mortalidad: _____
 Otros: _____

POSTRANSPORTE

Tratamiento : _____ Fecha: _____
 Hipotermia _____ °C Benzocaína _____ mg/L *Aloe vera*: S / N 9 L _____

(Replica _____)

Tiempo de aclimatación: _____ Supervivencia: _____

H₂O 5‰

TIEMPO	ACTIVIDAD Y SIGNO				ETAPA DE ANESTESIA McFarland 1959
	Equilibrio	Nado	Movimiento opercular	Sensibilidad al tacto	
0 min					
120 min					
24 hrs					
48 hrs					

(Replica _____)

Tiempo de aclimatación: _____ Supervivencia: _____

H₂O 5‰

TIEMPO	ACTIVIDAD Y SIGNO				ETAPA DE ANESTESIA McFarland 1959
	Equilibrio	Nado	Movimiento opercular	Sensibilidad al tacto	
0 min					
120 min					
24 hrs					
48 hrs					

(Replica _____)

Tiempo de aclimatación: _____ Supervivencia: _____

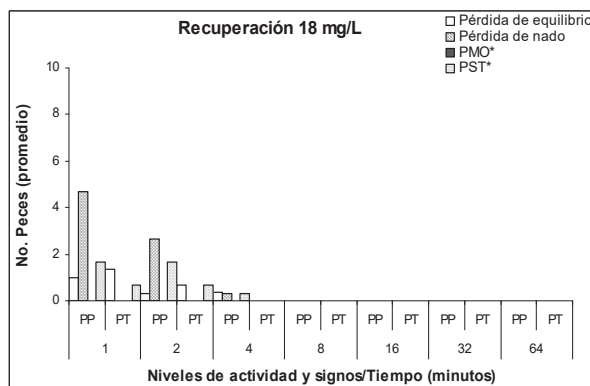
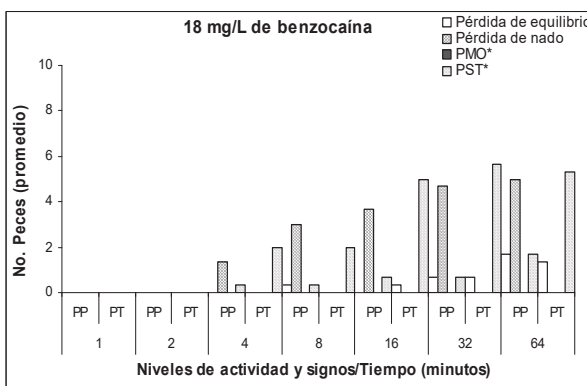
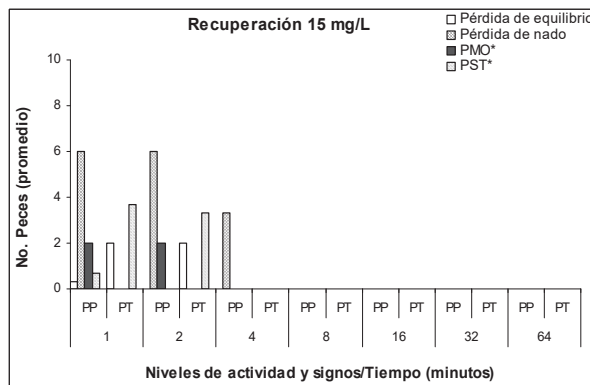
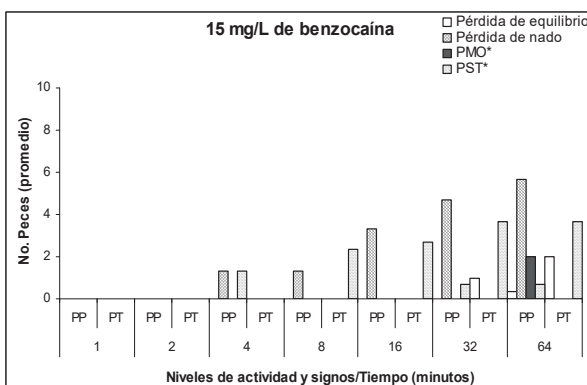
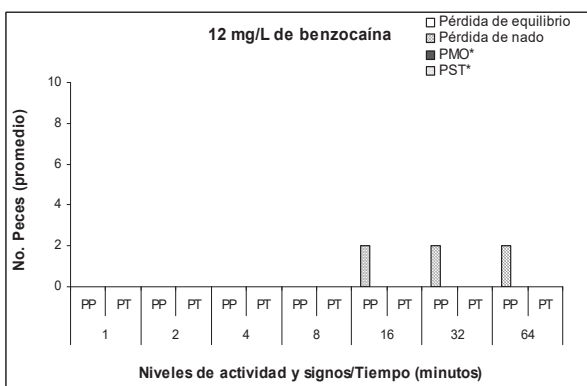
H₂O 5‰

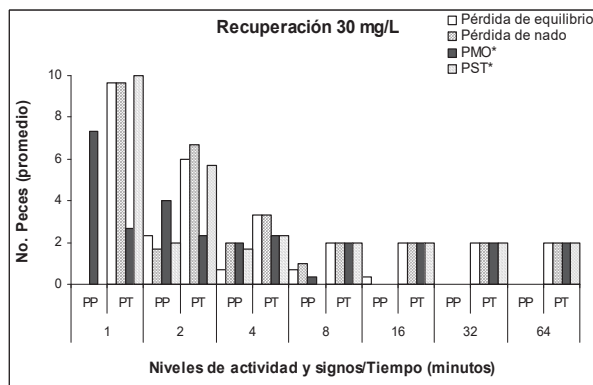
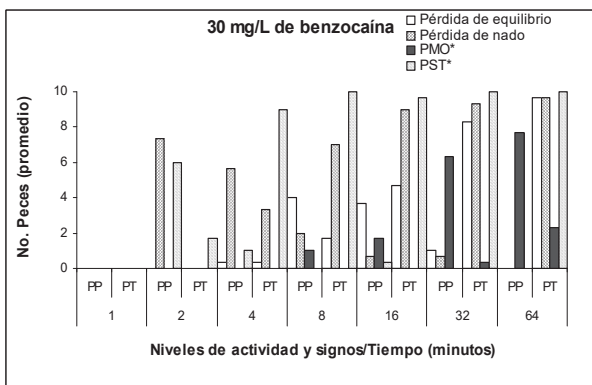
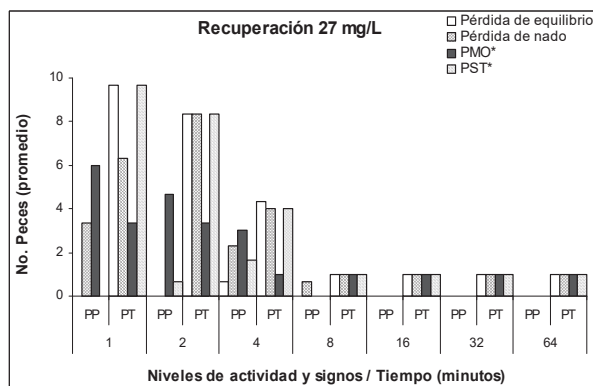
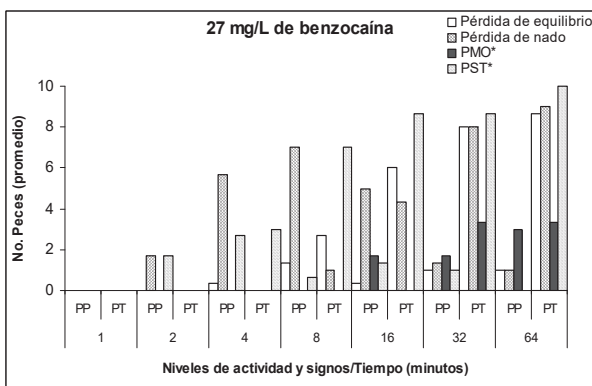
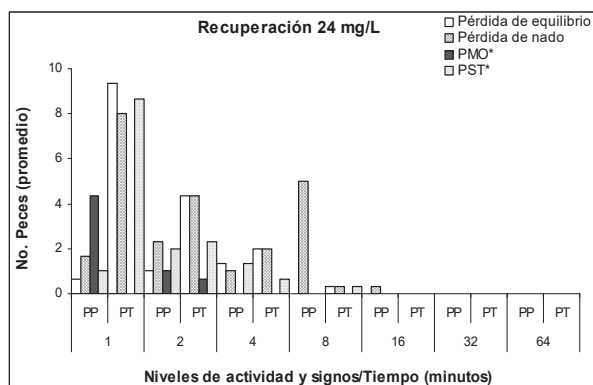
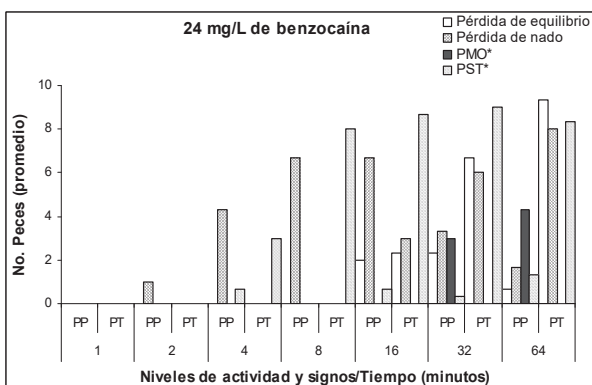
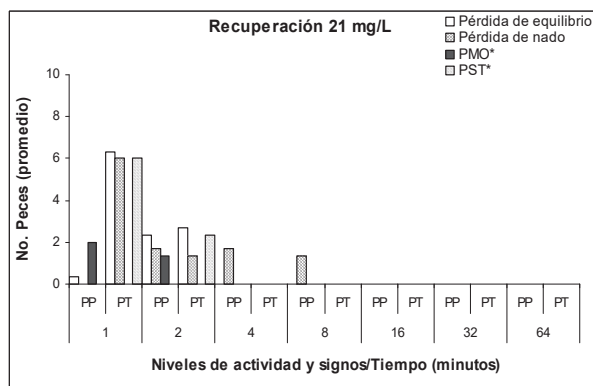
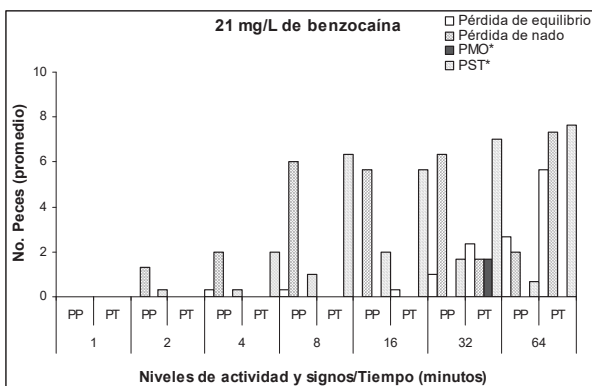
TIEMPO	ACTIVIDAD Y SIGNO				ETAPA DE ANESTESIA McFarland 1959
	Equilibrio	Nado	Movimiento opercular	Sensibilidad al tacto	
0 min					
120 min					
24 hrs					
48 hrs					

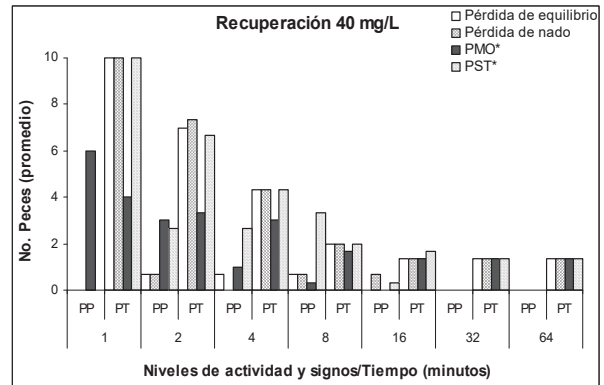
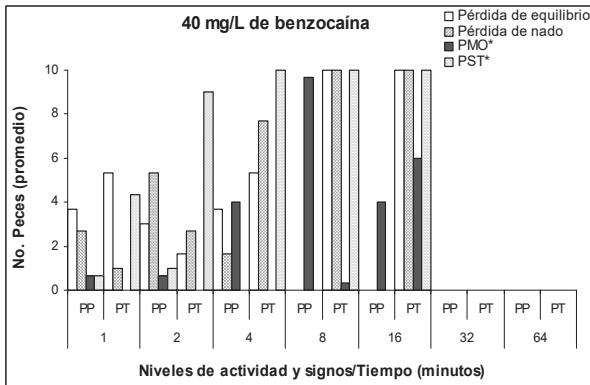
Anexo 4. Gráficas que muestran el número de peces (promedio) que en el tiempo presentaron dos niveles de actividad (PP: Pérdida parcial y PT: Pérdida total), alcanzados durante la exposición a benzocaína, hipotermia, benzocaína e hipotermia y recuperación.

*PMO: Pérdida de movimiento opercular, PST: Pérdida de sensibilidad al tacto

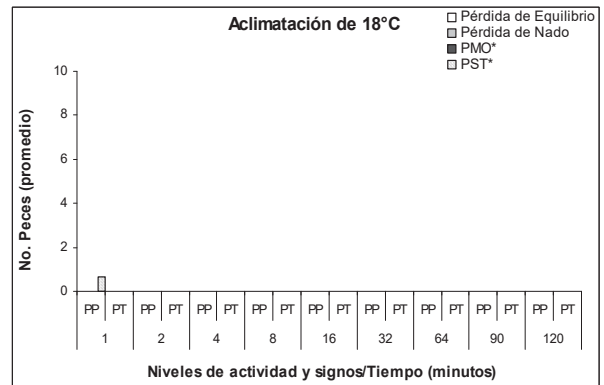
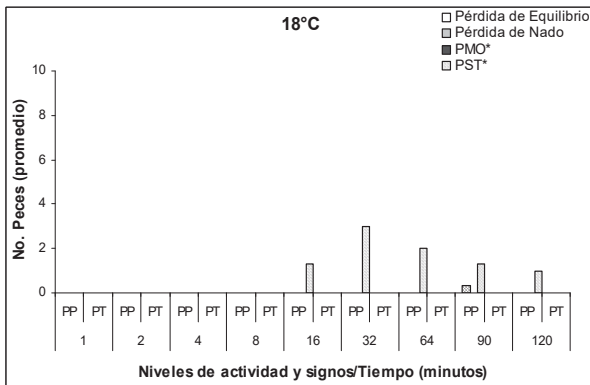
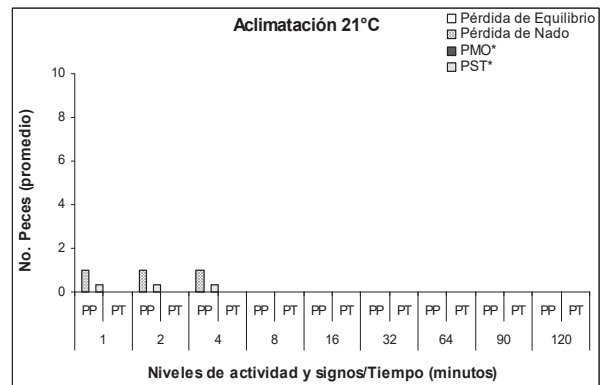
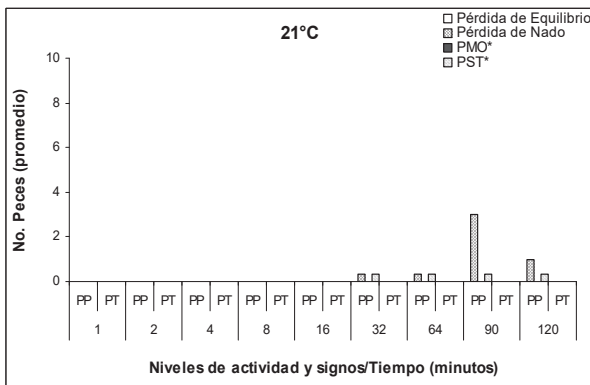
Benzocaína

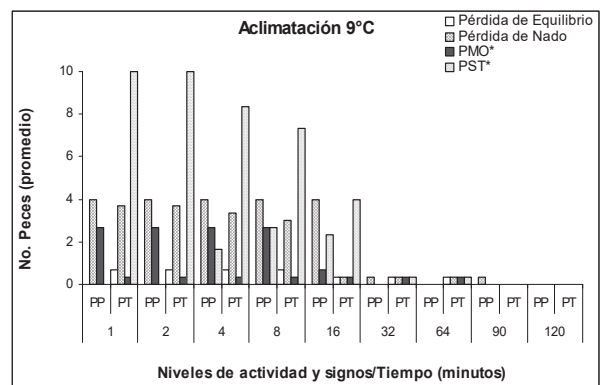
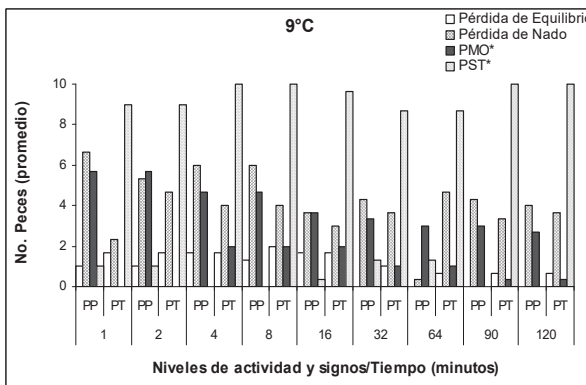
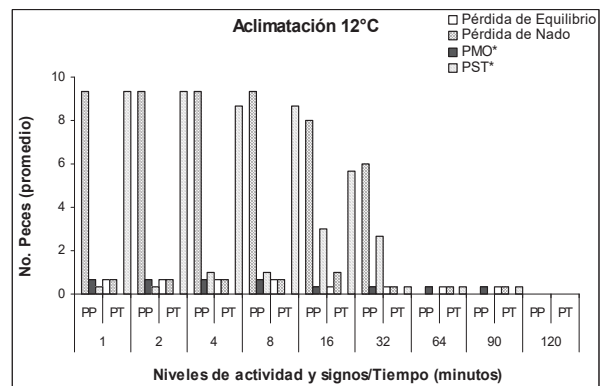
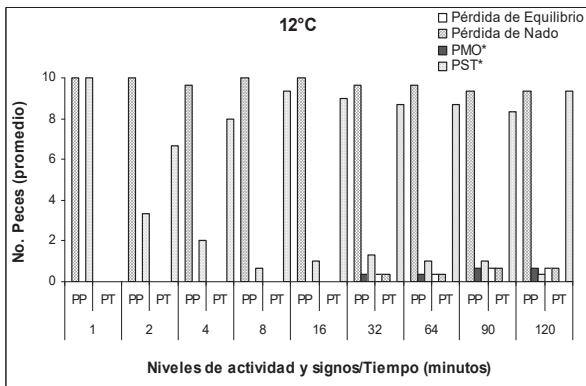
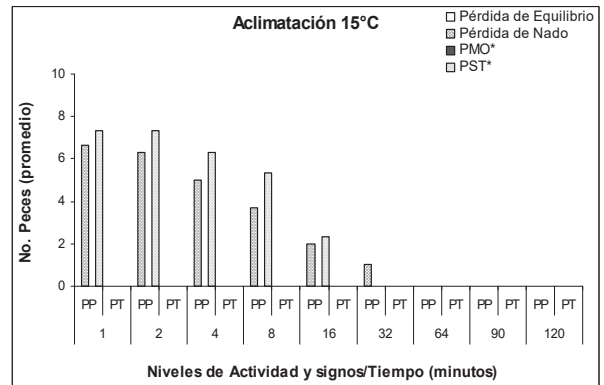
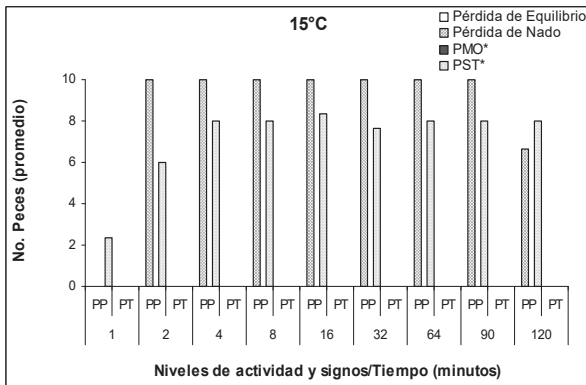






Hipotermia





Benzocaína e Hipotermia

