

Evaluación de cuatro anestésicos en peces cebo de agua dulce (*Cheirodon interruptus*) (Ostariophysi: Characidae)

Evaluation of four anaesthetics in freshwater baitfish (*Cheirodon interruptus*) (Ostariophysi: Characidae)

Natalia Urzúa Pizarro^{1,4}, Miguel Mancini², María Jimena Messina², Carlos Errecalde², Víctor Salinas², Carlos Lüders³, Guillermo Prieto²

RESUMEN

El estudio tuvo como objetivo evaluar la respuesta del eugenol, propofol, isoflurano y lidocaína sobre variables fisiológicas y anestesiológicas de *Cheirodon interruptus*, el pez cebo de mayor utilización en Argentina. Se conformaron seis grupos: eugenol 25 mg/l, eugenol 50 mg/l, lidocaína 300 mg/l, isoflurano 0.2 mg/l, isoflurano 0.4 mg/l y propofol 5 mg/l. Los ensayos se realizaron con agua a temperatura de 18.03 ± 2.1 °C, pH 6.87 ± 0.18 , oxígeno disuelto 6.73 ± 0.05 mg l⁻¹ y conductividad 3.74 ± 0.04 µS cm. El peso (1.6 ± 0.4 g) y longitud total (5.1 ± 0.4 cm) inicial fueron estadísticamente similares entre grupos. Los resultados indican que eugenol e isoflurano se ajustan a los requerimientos que debe reunir un buen anestésico para uso en peces. Para propofol y lidocaína se considera necesario revisar la dosificación para adecuar su uso en *C. interruptus* debido al elevado tiempo de recuperación. Los peces tratados con isoflurano (0.4 mg/l) y propofol tuvieron una disminución significativa ($p < 0.001$ y $p < 0.05$, respectivamente) entre la frecuencia respiratoria basal y durante la anestesia. Ninguno de los fármacos utilizados provocó muertes de peces.

Palabras clave: *Cheirodon interruptus*, lidocaína, isoflurano, eugenol, propofol, lidocaína

¹ Escuela de Medicina Veterinaria, Facultad de Recursos Naturales y Medicina Veterinaria, Universidad Santo Tomás, Puerto Montt, Chile

² Departamento de Clínica Animal, Universidad Nacional de Río Cuarto, Río Cuarto, Argentina

³ Departamento de Ciencias Veterinarias, Universidad Católica de Temuco, Temuco, Chile

⁴ Email: nurzua2@santotomas.cl

Recibido: 29 de octubre de 2021

Aceptado para publicación: 28 de mayo de 2022

Publicado: 31 de agosto de 2022

©Los autores. Este artículo es publicado por la Rev Inv Vet Perú de la Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Este es un artículo de acceso abierto, distribuido bajo los términos de la licencia Creative Commons Atribución 4.0 Internacional (CC BY 4.0) [<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.es>] que permite el uso, distribución y reproducción en cualquier medio, siempre que la obra original sea debidamente citada de su fuente original

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the response of eugenol, propofol, isoflurane and lidocaine on physiological and anaesthesiologic variables of *Cheirodon interruptus*, the most widely used baitfish in Argentina. Six groups were formed: 25 mg/l eugenol, 50 mg/l eugenol, 300 mg/l lidocaine, 0.2 mg/l isoflurane, 0.4 mg/l isoflurane, and 5 mg/l propofol. The tests are carried out with water at a temperature of 18.03 ± 2.1 °C, pH 6.87 ± 0.18 , dissolved oxygen 6.73 ± 0.05 mg l⁻¹ and conductivity 3.74 ± 0.04 μS cm. The initial weight (1.6 ± 0.4 g) and total length (5.1 ± 0.4 cm) were statistically similar between groups. The results indicate that eugenol and isoflurane meet the requirements that a good anaesthetic for use in fish should meet. For propofol and lidocaine, it is considered necessary to review the dosage to adapt its use in *C. interruptus* due to the long recovery time. The fish treated with isoflurane (0.4 mg/l) and propofol had a significant decrease ($p < 0.001$ and $p < 0.05$, respectively) between baseline respiratory rate and during anesthesia. None of the drugs used caused fish deaths.

Key words: *Cheirodon interruptus*, isoflurane, eugenol, propofol, lidocaine

INTRODUCCIÓN

El uso de anestésicos en la acuicultura es esencial para facilitar el manejo de los peces y reducir los factores que generan estrés, el cual afecta potencialmente la supervivencia, el crecimiento y la reproducción (de Souza *et al.*, 2012; Romaneli *et al.*, 2018). Estos fármacos se utilizan en prácticas de investigación, actividades productivas, transporte, análisis patológico, vacunación, manejo reproductivo y eutanasia, entre otros usos (Ross y Ross, 2008; Noga, 2010; de Souza *et al.*, 2012; Uehara *et al.*, 2018).

Los anestésicos en acuicultura se administran generalmente por baños de inmersión y en menor medida, por vía inyectable en peces de alto valor comercial. Dentro de los más utilizados se encuentran el aceite de clavo (eugenol), etomidato, quinaldine y tricaína (MS-222) (Coyle *et al.*, 2004; Ross y Ross, 2008; Neiffer y Stamper, 2009; Priborsky y Velisek, 2018). MS-222 es el único aprobado por la Food and Drug Administration (FDA) para uso en peces destinados a consumo humano en Estados Unidos (FDA,

2006; Priborsky y Velisek, 2018), mientras que propofol, lidocaína e isoflurano, entre otros, han sido únicamente evaluados en forma experimental en varias especies.

Las características ideales de los agentes anestésicos se basan en que la droga debe ser de fácil administración, lograr una inducción rápida, preferiblemente en menos de tres minutos y sin que produzca efectos adversos en los peces (Roubach y Gomes, 2001; Ross y Ross, 2008). Además, debe poder mantenerse a los animales en el estado de sedación elegido, proporcionando una inmovilización adecuada y una analgesia eficaz. Asimismo, la recuperación debe ser rápida y completa en un tiempo inferior a 10 minutos, sin signos de ataxia prolongada u otras características indeseables (Coyle *et al.*, 2004; Priborsky y Velisek, 2018).

La mojarra *Cheirodon interruptus* se incluye en la familia Characidae. Es una especie de pequeño tamaño que no supera los 6 cm y que presenta una amplia distribución en ambientes lénticos y lóticos de Argentina, Uruguay y Brasil, y ha sido introducida en Chile (Malabarba, 2003; Teixeira de Mello *et*

al., 2014). En Argentina, debido a su marcada demanda como pez cebo para la intensa actividad de pesca deportiva de pejerrey *Odontesthes bonariensis*, se ha incrementado su captura en numerosos ecosistemas pampeanos (Mancini y Grosman, 2008). Esto conlleva una gran explotación de poblaciones silvestres y el transporte de peces a largas distancias, lo cual ha motivado en los últimos años la realización de experiencias de cultivo. *Cheirodon interruptus* es una especie tolerante a la manipulación y de rápida adaptación y su producción bajo condiciones de cultivo disminuye la presión de extracción de las poblaciones y evita alterar los ambientes naturales; además, esta mojarra es sencilla de mantener en acuarios, lo cual posibilita su utilización para bioensayos (Ferriz *et al.*, 2011; Teixeira de Mello *et al.*, 2014; Prieto *et al.*, 2017; García, 2018).

Los estudios sobre uso de anestésicos en *C. interruptus* son casi nulos. Se dispone de algunos antecedentes en la familia Characidae con aceite de clavo (eugenol) y propofol, los cuales han demostrado ser eficaces y seguros para determinadas especies (Silva *et al.*, 2009; Ostrensky *et al.*, 2016; Fernandes *et al.*, 2017; Uehara *et al.*, 2018; Oliveira *et al.*, 2019). Por su parte, isoflurano y lidocaína no presentan estudios previos que verifiquen su eficacia anestésica en carácidos. Ante esto, el objetivo del presente estudio fue evaluar cuatro anestésicos (eugenol, lidocaína, isoflurano y propofol), como alternativa para facilitar el manejo de *C. interruptus*, determinando la eficacia anestésica y la seguridad de los fármacos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Peces

Se utilizaron 78 ejemplares adultos de *C. interruptus* de ambos sexos. Los peces fueron alojados para su aclimatación en el Laboratorio de Farmacología de la Universidad Nacional de Río Cuarto, Argentina, en

dos peceras de vidrio de 80 L cada una, provistas de equipos de filtrado y con aireación permanente. Todos los peces fueron sometidos a un ayuno de 24 horas previo a las experiencias.

Para la medición de las características del agua se utilizaron equipos multiparamétricos digitales (pHmetro - conductímetro Milwaukee MI 806 y oxímetro Hanna HI 98103). Los valores de temperatura, pH, oxígeno disuelto y conductividad del agua fueron 18.03 ± 2.1 °C, 6.87 ± 0.18 , 6.73 ± 0.05 mg L⁻¹ y 3.74 ± 4 μS cm. Agua con estas características se utilizó, además, para la preparación del anestésico y para evaluar las respuestas fisiológicas de los peces.

Agentes Anestésicos

Los agentes anestésicos utilizados en los baños de inmersión fueron eugenol (Lab. Dickinson, Argentina), propofol (Lab. Abbott, Argentina), isoflurano (Lab. Richmond, Argentina) y lidocaína clorhidrato (Denver Farma, Argentina). Las dosis empleadas se presentan en el Cuadro 1.

- Propofol e isoflurano se adicionaron directamente en el agua, agitando para favorecer la dispersión de ambos.
- Lidocaína: Se agregó al agua bicarbonato de sodio (1 g/l) en forma previa para mejorar la calidad de la anestesia (Ross y Ross, 2008; Ackerman *et al.*, 2005).

Cuadro 1. Dosis anestésica de los fármacos empleados en el estudio

Grupo	Fármaco	Dosis
E50 (control)	Eugenol	50 mg/l
E25	Eugenol	25 mg/l
LI300	Lidocaína	300 mg/l
IS0.2	Isoflurano	0.2 mg/l
IS0.4	Isoflurano	0.4 mg/l
P5	Propofol	5 mg/l

- Eugenol: Este fármaco posee escasa solubilidad en agua, por lo que fue disuelto previamente en etanol en una relación de 1:9 (eugenol:etanol). Se estableció una dosis de 50 mg/l como control para los estudios estadísticos, al ser la dosis recomendada para la familia Characidae (Oliveira *et al.*, 2019).

Diseño Experimental

Los peces fueron asignados al azar a seis grupos experimentales (13 por grupo). La evaluación del efecto anestésico se realizó de manera individual para facilitar la observación de las diferentes fases de la anestesia. El tiempo fue medido mediante un cronómetro de precisión. Los peces luego de la recuperación permanecieron en observación durante 72 horas.

Las evaluaciones se hicieron en contenedores de 10 L de capacidad. Los peces fueron colocados, previo al ingreso al contenedor con el anestésico, en un recipiente con agua libre de fármaco para evaluar su conducta natatoria y registrar la frecuencia respiratoria basal (FR basal). Luego se les introdujo en el contenedor evaluándose los tiempos en alcanzar las distintas etapas propuestas por Coyle *et al.* (2004) y Treves-Brown (2000) (ver Cuadro 2). Se consideró el tiempo en alcanzar las siguientes fases: I) Del ingreso hasta presentar una disminución leve de sus movimientos corporales y la pérdida parcial del equilibrio; II) adopción de una po-

sición lateral en el fondo de contenedor con reacción a estímulos y III) el pez permanece en el fondo del contenedor, sin movimientos y sin reacción a estímulos táctiles.

Se determinó la frecuencia respiratoria en anestesia (FR) luego de alcanzada la fase III. Luego, los peces fueron retirados del contenedor para registrar su peso (balanza digital con precisión de 0.1 g) y longitud total (ictiómetro graduado en mm). Luego se trasladaron al contenedor con agua sin fármaco, donde se determinó el tiempo de recuperación (los peces recuperan la posición vertical y la natación normal).

Análisis Estadístico

En los análisis estadísticos se utilizó el programa Prisma GraphPad 8.0 (Software GraphPad). Según lo expuesto por Martins *et al.* (2018), inicialmente se determinó si los datos siguieron una distribución Gaussiana, tanto los datos biométricos (peso y longitud) y fisiológicos (frecuencia respiratoria basal y en anestesia) como los tiempos de las fases de anestesia y de recuperación. Para la normalidad se usó la prueba de normalidad D'Agostino-Pearson y posteriormente se aplicaron pruebas paramétricas o no paramétricas, según correspondan.

Se utilizó el análisis de varianza ($p < 0.05$) de una vía, seguida por la prueba de Dunnett's para la múltiple comparación con el grupo control (E50) con los datos obtenidos de los

Cuadro 2. Fases de la anestesia (Traves-Brown, 2000; Coley *et al.*, 2004)

Estadio	Condición	Comportamiento/Respuesta
I	Sedación	Reducido movimiento y respiración. Pérdida del equilibrio Parcial
II	Anestesia	Pérdida del equilibrio lateral. Reactivo a estímulo táctil
III	Anestesia quirúrgica	Pérdida total de equilibrio. No reactivo al estímulo táctil
IV	Muerte	Respiración y parada de los latidos del corazón. Sobredosis - muerte eventual

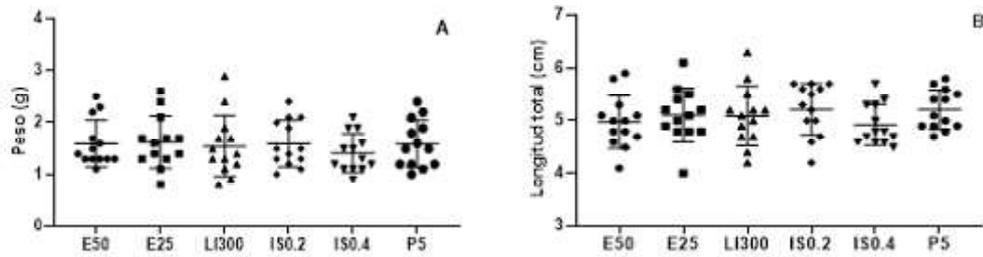


Figura 1. Peso (A) y longitud total (B) de los ejemplares de *C. interruptus* sometidos a baños anestésicos de Eugenol 50 mg/l (E50), eugenol 25 mg/l (E25), lidocaína 300 mg/l (LI300), isoflurano 0.2 mg/l (IS0.2), isoflurano 0.4 mg/l (IS0.4) y propofol 5 mg/l (P5). Cada punto representa un animal (n=13). Sin diferencias significativas ($p>0.05$)

tratamientos anestésicos, excepto para la frecuencia respiratoria basal y con anestesia en el mismo tratamiento, para evaluar la acción del anestésico sobre la respiración. Se utilizó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis ($p>0.05$), seguida de la prueba de Dunn de comparaciones múltiples para comparar el efecto de los protocolos de anestesia. Todos los datos en los gráficos se presentan como promedio (\pm SD).

RESULTADOS

Todos los peces expuestos a los anestésicos lograron una anestesia quirúrgica (Fase III) y no se registraron muertes durante las experiencias o hasta las 72 horas de la anestesia. Tampoco se observaron conductas anormales durante la inducción o recuperación, a excepción del grupo con lidocaína, donde se observó excitación con comportamiento errático, caracterizado por natación acelerada en forma circular, antes de alcanzar la fase II.

No hubo diferencia significativa en los datos biométricos de los peces al inicio del estudio (Figura 1), siendo el peso promedio de 1.6 ± 0.4 g y la longitud total de 5.1 ± 0.4 cm. Las fases anestésicas (I, II y III) y de recuperación se observan en la Figura 2. La

frecuencia respiratoria basal y en anestesia se presenta en la Figura 3.

En Fase I (Figura 2C), se observa que E50, IS0.2 ($p<0.05$) y P5 ($p<0.001$) demandan mayor tiempo para producir la sedación de los peces, mientras que en el caso de IS0.4 ($p<0.001$), el tiempo es significativamente menor. No hubo diferencias significativas en E25 y LI300. En Fase II (Fig. 2D), los tiempos de los tratamientos E25, IS02 y P5 fueron significativamente mayores en comparación con los animales del grupo control ($p<0.001$), con excepción de IS0.4 ($p<0.05$) que registra una disminución significativa en el tiempo de anestesia. En Fase III (Figura 2E), todos los peces alcanzaron la anestesia quirúrgica independientemente del anestésico y la dosis. Los tiempos de E25, IS0.2, LI300 y P5 ($p<0.001$) fueron significativamente mayores, mientras que IS.04 ($p<0.05$) mantuvo la tendencia a una respuesta a menor tiempo de lograr el plano anestésico. La recuperación (Fig. 2F) tomó más tiempo en los peces expuestos a P5 ($p<0.001$), seguido a la distancia por LI300, IS0.2 e IS0.4 ($p<0.05$).

La frecuencia respiratoria basal no presentó diferencias entre grupos (Figura 3); sin embargo, la frecuencia respiratoria durante la anestesia se vio afectada en los peces de

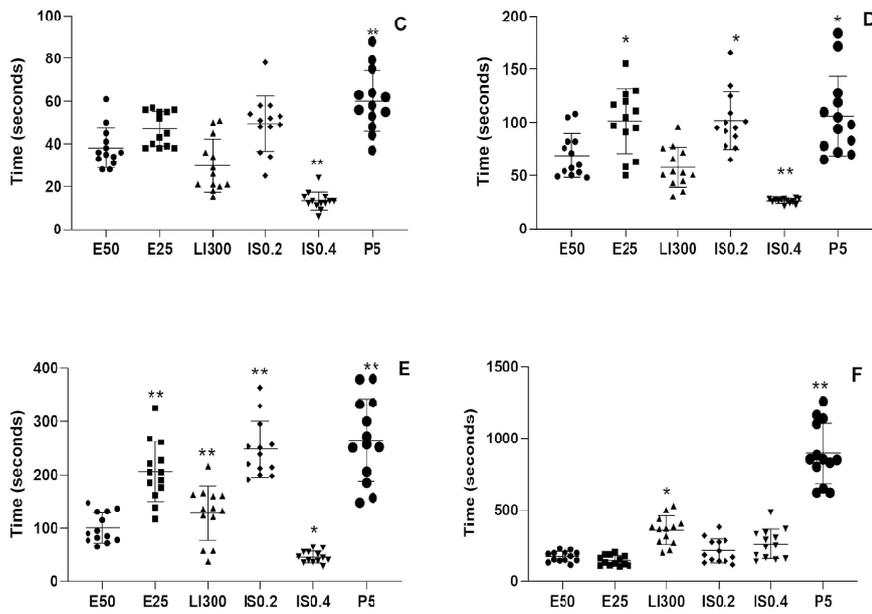


Figura 2. Tiempos de anestesia y recuperación de *C. interruptus* según fase, anestésico y dosis. C) Tiempo de Fase I (sedación); D) Tiempo de Fase II (anestesia); E) tiempo de Fase III (anestesia quirúrgica); F) Tiempo de recuperación de los anestésicos: eugenol 50 mg/l (E50), eugenol 25 mg/l (E25), lidocaína 300 mg/l (LI300), isoflurano 0.2 mg/l (IS0.2), isoflurano 0.4 mg/l (IS0.4) y propofol 5 mg/l (P5). Cada punto representa un animal (n=13). Los datos se expresan como promedio en comparación al grupo E50. * (p<0.05); ** (p<0.001)

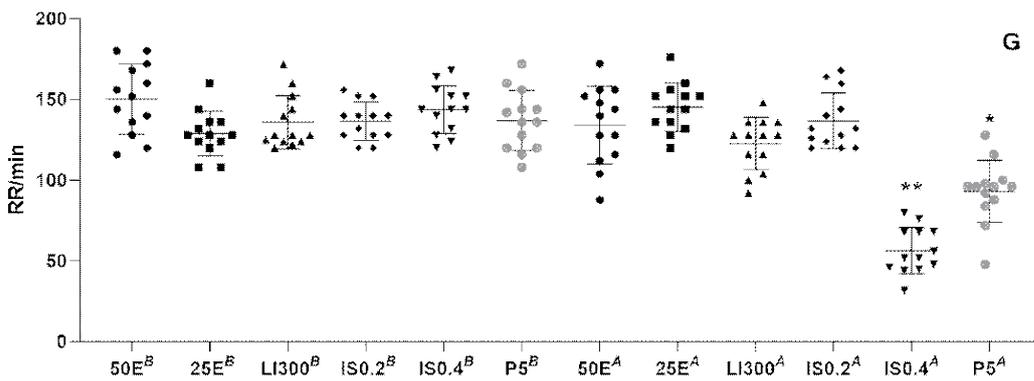


Figura 3. Frecuencia respiratoria (FR) de *C. interruptus* como respuesta a diferentes anestésicos o dosis. (B) basal y (A) en anestesia. Eugenol 50 mg/l (E50), eugenol 25 mg/l (E25), lidocaína 300 mg/l (LI300), isoflurano 0.2 mg/l (IS0.2), isoflurano 0.4 mg/l (IS0.4) y propofol 5 mg/l (P5). Cada punto representa un animal (n=13). Los datos se expresan como promedio en comparación al grupo E50. * (p<0.05); ** (p<0.001)

los grupos IS0.4 ($p < 0.001$) y P5 ($p < 0.05$), disminuyendo significativamente en relación con la basal.

DISCUSIÓN

Los tiempos de repuesta a los anestésicos en Fases I y II fueron similares a los expuestos en *Oligosarcus argenteus* y *Astyanax altiparanae* (Silva *et al.*, 2009; Uehara *et al.*, 2018), pero en *C. interruptus* se reporta una disminución del tiempo para lograr la Fase III y la recuperación, que puede deberse a la propia tasa metabólica de la especie, la temperatura del agua y el tamaño de los peces, factores que generan variabilidad a la respuesta al anestésico (Coyle *et al.*, 2004; Noga, 2010). Por otro lado, *Hyphessobrycon* sp y *Hemigrammus* sp, con la misma dosis de eugenol (50 mg/l) registran un tiempo de inducción de la anestesia (Fase III) más corto de 13 s, pero mayor tiempo de recuperación al de *C. interruptus* de 6 min. Estas diferencias, si bien son peces de la misma familia, las diferencias pueden explicarse en función que son criados en distintas condiciones ambientales (Fernandes *et al.*, 2017).

Los peces expuestos a eugenol (E25) con relación al grupo control (E50) registran aumentos significativos ($p < 0.001$) en los tiempos de Fase II y III de anestesia, similar a lo expuesto por *Oligosarcus argenteus* (Uehara *et al.*, 2018), lo cual es consistente con el mayor tiempo que se necesita en alcanzar la anestesia a menor dosis del fármaco (Silva *et al.*, 2009). Por otro lado, en *Hyphessobrycon* sp y *Hemigrammus* sp, peces que pertenecen a la misma familia de *C. interruptus*, se determinó la dosis letal de 200 mg/l, mientras que dosis tolerables fueron de 100 mg/l (Fernandes *et al.*, 2017).

Los animales del grupo LI300 no mostraron diferencias significativas con el grupo control con relación a los tiempos de las fases I y II, mientras que en la fase III registraron un aumento significativo ($p < 0.001$), con

un tiempo similar al reportado en el pez cebra (*Danio rerio*) con igual dosis (Collymore *et al.*, 2014). La recuperación de *C. interruptus* expuesta a LI300 fue ≤ 6 min, tiempo mayor a los otros anestésicos en estudio, excepto de P50. Sin embargo, es conocido que existe un margen de seguridad razonable entre las dosis anestésicas y letales de lidocaína (Noga, 2010).

Los peces expuestos a isoflurano presentaron mayor variabilidad interindividual en comparación al grupo control, pero no registrar on signos de excitación como fue reportado en *D. rerio* (Collymore *et al.*, 2014). Los peces expuestos a una concentración de 0.2 mg/l (IS0.2) tuvieron un aumento significativo ($p < 0.05$) en los tiempos de las fases II y III, mientras que los peces expuestos a una concentración de isoflurano de 0.4 mg/l (IS0.4) registraron una disminución significativa en todas las fases de la anestesia ($p < 0.001$) en comparación a los animales E50. Sin embargo, no hubo diferencia significativa con el tiempo de recuperación, el cual fue similar al descrito para *D. rerio* (Collymore *et al.*, 2014).

Propofol (P5) muestra un aumento significativo ($p < 0.001$) en los tiempos de anestesia y recuperación en comparación al grupo control, así como una mayor variabilidad interindividual. Los tiempos registrados fueron similares a los reportados para *D. rerio* a la misma dosis (Valentim *et al.*, 2016). Por otro lado, se determinó una disminución cerca al 32% de la frecuencia respiratoria ($p < 0.05$) en los peces expuestos al propofol, similar a lo descrito en otras especies de peces (Peyghan *et al.*, 2008; Gomuška *et al.*, 2015).

Todos los peces llegaron a una anestesia quirúrgica (Fase III) con los fármacos evaluados, independiente de la dosis. Los que registraron una anestesia quirúrgica en menos de 3 min fueron los de los grupos E50, LI300 y IS0.4, mientras que todos se recuperan en menos de 6 min, a excepción del gru-

po P5 que registró un tiempo de recuperación cercano a los 15 min. Esto revela que la utilización de propofol a una dosis de 5 mg/l no representa un buen anestésico para *C. interruptus*, por su tardía recuperación, según los parámetros expuestos como ideales para un fármaco sedante (Coyle *et al* 2004; Priborsky y Velisek 2018).

CONCLUSIONES

- Eugenol e isoflurano pueden considerarse aptos para la utilización en *C. interruptus* al ajustarse a los requerimientos ideales para anestésicos en peces
- La excitación inicial provocada por lidocaína, descartando la influencia de factores externos, podría atribuirse a una dosis insuficiente que indujo lenta la anestesia, resultados que sugieren reevaluar la dosificación.
- La dosis de propofol requiere de nuevos estudios, dado el extenso tiempo de recuperación y su interferencia en la frecuencia respiratoria bajo anestesia,
- No se registraron muertes hasta las 72 horas pos-aplicación de los fármacos utilizados.

LITERATURA CITADA

1. **Ackerman PA, Morgan JD, Iwama GK. 2005.** Anesthetics. In: Supplement to the Guidelines on: the care and use of fish in research, teaching and testing. Canadian Council on Animal Care (CCAC). Ottawa. [Internet]. Available on: http://www.ccac.ca/Documents/Standards/Guidelines/Add_PDFs/Fish_Anesthetics.pdf
2. **Collymore C, Tolwani A, Lieggi C, Rasmussen S. 2014.** Efficacy and safety of 5 anesthetics in adult zebrafish (*Danio rerio*). *J Am Assoc Lab Anim Sci* 53: 198-203.
3. **Coyle SD, Durborow RM, Tidwell JH. 2004.** Anesthetics in aquaculture. SRAC Publication No. 3900. Texas. USA.
4. **De Souza RA, de Carvalho CV, Nunes FF, Scopel BR, Guarizi JD, Tsuzuki MM. 2012.** Efeito comparativo da benzocaína, mentol e eugenol como anestésicos para juvenis de robalo peva. *Bol Inst Pesca* 38:247-255.
5. **[FDA] U.S. Food and Drug Administration. 2006.** Data base of approved animal drug products. U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Center for Veterinary Medicine. VMRCVM Drug Information Laboratory. [Internet]. Available on: <https://www.fda.gov/animal-veterinary/products/approved-animal-drug-products-green-book>
6. **Fernandes IM, Bastos YF, Barreto DS, Lourenço LS, Penha JM. 2017.** The efficacy of clove oil as an anaesthetic and in euthanasia procedure for small-sized tropical fishes. *Braz J Biol* 77: 444-450. doi: 10.1590/1519-6984.15015
7. **Ferriz RA, Bentos CA, Fernández EM, López GR. 2011.** Reproducción y dinámica poblacional de *Cheirodon interruptus* (Ostariophysi: Characidae) en el arroyo El Portugués, alta cuenca del río Samborombón, Argentina. *Lat Am J Aquat Res* 39: 151-160. doi: 10.3856/vol39-issuel-fulltext-14
8. **García ID. 2018.** Desarrollo de un sistema de cría para *Cheirodon interruptus*: una alternativa a la explotación de poblaciones silvestres y para el uso de la especie en bioensayos de toxicidad Tesis Doctoral. Argentina: Univ. Nacional de La Plata. 131 p.
9. **Gomuška P, Fornal E, Berecka B, Szmagara A, Ziomek E. 2015.** Pharmacokinetics of propofol in rainbow trout following bath exposure. *Pol J Vet Sci* 18: 147-152. doi: 10.1515/pjvs-2015-0019

10. **Malabarba LR. 2003.** Subfamily Cheirodontinae (Characins, tetras). In: Reis R (ed). Check list of the freshwater fishes of South and Central America. Porto Alegre. Brazil: EDIPUCRS
11. **Mancini M, Grosman G. 2008.** El pejerrey de las lagunas pampeanas. Análisis de casos tendientes a una gestión integral de las pesquerías. Argentina: Univ. Nacional de Río Cuarto. 446 p.
12. **Martins T, Diniz E, Félix LM, Antunes L. 2018.** Evaluation of anaesthetic protocols for laboratory adult zebrafish (*Danio rerio*). PLoS One 13: e0197846. doi: 10.1371/journal.pone.0197846
13. **Neiffer DL, Stamper MA. 2009.** Fish sedation, analgesia, anesthesia, and euthanasia: considerations, methods, and types of drugs. Ilar J 50: 343-360. doi: 10.1093/ilar.50.4.343
14. **Noga E. 2010.** Fish disease: diagnosis and treatment. 2nd ed. Oxford, UK: Wiley-Blackwell. 519 p.
15. **Oliveira RH, Pereira Da Silva EM, Viegas EM. 2019.** Clove oil attenuates stress responses in lambari, *Astyanax altiparanae*. Aquac Res 50: 3350-3356. doi: 10.1111/are.14293
16. **Ostrensky A, Pedrazzani AS, Vicente AL. 2016.** Use of MS 222 (tricaine methanesulfonate) and propofol (2, 6 diisopropylphenol) as anaesthetics for the tetra *Astyanax altiparanae* (Teleostei, Characidae). Aquac Res 47: 3477-3488. doi: 10.1111/are.12797
17. **Peyghan R, Papahn AA, Nadaf H, Ebadi A. 2008.** Anesthesia with propofol in grass carp, *Ctenopharyngodon idella*, and its effects on electrocardiogram, blood gases and pH. Iran J Vet Surg 3: 9-18.
18. **Priborsky J, Velisek J. 2018.** A review of three commonly used fish anesthetics. Rev Fish Sci Aquac 26: 417-442.
19. **Prieto G, Mancini M, Errecalde C, Urzua N, Tonini M, Messina J. 2015.** Respuesta de *Cheirodon interruptus* frente a la exposición del eugenol. En: VIII Congreso de Ecología y Manejo de Ecosistemas Acuáticos Pampeanos. Buenos Aires, Argentina.
20. **Prieto G, Urzúa Pizarro NF, Mancini MA, Tonini MP, Messina J, Salas S, Errecalde C. 2017.** Anaesthetic effect of propofol on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in two different concentrations. Iran. J. Vet. Surg 12: 18-24.
21. **Romanelli RS, Boaratti AZ, Rodrigues AT, Queiroz DMA, Khan KU, Nascimento TMT, Fernandes JBK, et al. 2018.** Efficacy of benzocaine, eugenol, and menthol as anesthetics for freshwater angelfish. J Aquat Anim Health 30: 210-216. doi: 10.1002/aah.10030
22. **Ross LG, Ross B. 2008.** Anaesthetic and sedative techniques for aquatic animals. 3rd ed. Oxford, UK: Wiley-Blackwell. 221 p.
23. **Roubach R, De Carvalho Gomes A, Val L. 2001.** Safest level of tricaine methanesulphonate (MS-222) to induce anesthesia in juveniles of matrinxã, *Brycon cephalus*. Acta Amazon 31: 159-163. doi: 10.1590/1809-439220013-11163
24. **Silva EM, Oliveira RH, Ribeiro MA, Coppola MP. 2009.** Efeito anestésico do óleo de cravo em alevinos de Lambari. Cienc. Rural 39: 1851-1856.
25. **Teixeira de Mello F, González-Bergonzoni I, Loureiro M. 2011.** Peces de agua dulce del Uruguay. Montevideo, Uruguay: Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca de Uruguay. 187 p.
26. **Treves-Brown KM. 2000.** Applied fish pharmacology. Dordrecht. Netherlands: Aquaculture Series. 309 p.
27. **Uehara SA, Andrade DR, Takata R, Júnior AG, Vidal MV. 2018.** The effectiveness of tricaine, benzocaine, clove oil, and menthol as anesthetics for lambari-bocarra *Oligosarcus argenteus*. Aquaculture. 502: 326-331. doi: 10.1016/j.aquaculture.2018.12.054
28. **Valentim AM, Félix LM, Carvalho L, Diniz E, Antunes LM. 2016.** A new anaesthetic protocol for adult zebrafish (*Danio rerio*): propofol combined with lidocaine. PLoS One 11: e0147747. doi: 10.1371/journal.pone.0147747