

Uso del etanol como anestésico en paralarvas del pulpo *Octopus vulgaris*: una contribución al bienestar de los cefalópodos en cultivo

F. Rocha^{1,2}, R. Fernández-Gago^{1,2} y L. Mantilla-Aldana^{1,2}

¹Departamento de Ecología y Biología Animal, Universidad de Vigo, 36310 Vigo. E-mail: frocha@uvigo.es

²ECIMAT, Universidad de Vigo, Isla de Toralla, Vigo

Abstract

Trials were performed with ethanol in order to test their effect as anaesthetic in *Octopus vulgaris* paralarvae. Ethanol was an effective anaesthetic with limited toxic or stressing effect only at high concentrations (2-3%). Anesthetized specimens show relaxed musculature, non-active chromatophores and absence of the respiratory processes. Specimens' recovery after anesthesia is good and no adverse effects were observed after.

Resumen

Se realizaron ensayos con etanol para determinar su efecto como anestésico en las paralarvas de *Octopus vulgaris*. El etanol mostró ser muy efectivo, con limitados efectos tóxicos o de sufrimiento, observados sólo concentraciones elevadas (2-3%). Los ejemplares anestesiados mostraron una musculatura relajada, cromatóforos no activos y ausencia de ventilación. La recuperación fue buena y no se observaron efectos adversos posteriores.

Justificación

El uso de anestésicos en cefalópodos para una correcta manipulación, bajo una adecuada conducta ética, es un aspecto obligatorio desde la aprobación de la directiva de la UE 2010/63/EU (Andrews *et al.*, 2013). Con referencia a esto, varios han sido los anestésicos utilizados en estos moluscos, principalmente cloruro de magnesio, aceite de clavo y etanol (Estefanell, 2010; Gleadall, 2013; Polese *et al.*, 2014). Las investigaciones realizadas se han centrado en especímenes adultos y juveniles, existiendo un gran desconocimiento sobre este tema en los estadios larvarios. En este trabajo se analizó el uso del etanol como anestésico para la sedación de paralarvas del pulpo común, *Octopus vulgaris* Cuvier 1797. Así mismo, se evaluó su efecto sobre las paralarvas y su eficacia a la hora de realizar mediciones y estudios sobre individuos vivos de la especie.

Material y métodos

Grupos de 5 paralarvas de *O. vulgaris* de 3 días de vida fueron sometidas al efecto del etanol. Los ejemplares se extrajeron individualmente, mediante sifonado, del tanque de cultivo y fueron depositados en un frasco con 40 mL de agua de mar. Posteriormente se agregó etanol al 96%, evitando que caiga directamente sobre las paralarvas, hasta percibir la detención de su natación momento en el que se establece el inicio de los efectos sedantes. Las concentraciones finales del etanol utilizadas fueron 0,50%, 1%, 2% y 3%. Los individuos fueron mantenidos bajo sedación durante 5 minutos, fotografiados, filmados y medidos con una lupa binocular (Nikon SMZ 1500) conectada a un sistema de análisis de imagen. Pasado el tiempo de sedación, se pusieron en un frasco con 100 mL de agua de mar filtrada a temperatura ambiente, donde se registró su tiempo de recuperación, el inicio de la funcionalidad de los cromatóforos, la natación libre y la respuesta a un estímulo externo (Flujo de agua con pipeta). Se siguieron los criterios de Andrews *et al.* (2013) y Gleadall (2013) para detectar efectos tóxicos, dolor, sufrimiento o angustia: irritación en piel y ojos, cambios anormales en coloración y textura de la piel, contracción y postura corporal. Además se observó la aparición de respuestas indicadoras de estrés, como la liberación de tinta al aplicar el anestésico o durante la recuperación después de la anestesia.

Resultados y discusión

El uso de etanol como anestésico demostró ser un método muy eficiente para la sedación de las paralarvas de *O. vulgaris*. Todas las paralarvas fueron anestesiadas sin observarse en ellas signos de efectos tóxicos o de dolor. Con la debida aplicación concentración del etanol utilizadas, los ejemplares no mostraron cambios significativos de coloración o contracción muscular, ni irritación de piel y ojos (**Figura 1**).

Sólo cuando la concentración de etanol fue alta (2 y 3%) se observó en la recuperación signos de estrés determinados por la liberación de tinta (**Tabla 1**) por parte de las paralarvas al comenzar a nadar. También se observó estrés, cuando al nadar la paralarva atravesaba una zona donde se agregaba una gota de etanol, reflejado en una reacción de escape, liberación de tinta y contracción del cuerpo. Sin embargo, estos efectos no se observaron si el etanol era aplicado correctamente y en dosis menores. Los ejemplares se recuperaron normalmente después de la sedación y no se observaron efectos posteriores en el cultivo.

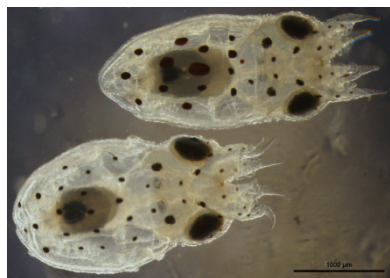


Figura 1. Paralarvas de *Octopus vulgaris* con 3 días de vida anestesiadas con etanol.

Tabla 1. Observaciones durante el proceso de anestesiado y recuperación. Los tiempos de observación son referidos al porcentaje de los individuos analizados. Con (%): Porcentaje de concentración de etanol; Crom: Cromatóforos; T: Tiempo; Seg: segundos.

OBSERVACIONES DURANTE SEDACIÓN						OBSERVACIONES DURANTE RECUPERACIÓN			
Con (%)	Crom	Ventilación	Natación	Brazos	Corazón	T Recuperación (Seg)		Crom activos (seg)	Expulsión de tinta (%)
						60%	100%		
0	Activos	Normal	Errática	Activos	Normal	0±0	0±0	0±0	0
0,5	Activos	Disminución	Errática	No activos	Normal	14±20	41±13	16±23	0
1	No activos tras 2 min	Disminución	No existente	No activos	Disminución	57±17	87±31	78,5±19	0
2	No activos	No existente	No existente	No activos	Muy disminuida	224±89	355±17	105±7	30
3	No activos	No existente	No existente	Contracción	Muy disminuida	536±99	626±77	244±22	50

En conclusión, el uso de etanol como anestésico es un método muy eficaz para el estudio de las paralarvas de pulpos. Suministrado correctamente no parece producir efectos nocivos, estrés, dolor o sufrimiento en las paralarvas analizadas, y permite el estudio de los animales bajo condiciones controladas.

Bibliografía

- Andrews, P.L.R., A.S. Darmaillacq, N. Dennison, I.G. Gleadall, P. Hawkins, J.B. Messenger, D. Osorio, V.J. Smith y J.A. Smith. 2013. The identification and management of pain, suffering and distress in cephalopods, including anaesthesia, analgesia and humane killing. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 447: 46-64.
- Estefanell, J.; Socorro, J.; Afonso, J. M.; Roo, J.; Fernández Palacios, H. y Izquierdo M.S. 2010. Evaluation of two anaesthetic agents and the passive integrated transponder tagging system in *Octopus vulgaris* (Cuvier 1797). *Aquaculture Research*, 42: 399-406.
- Gleadall, I.G. 2013. The effects of prospective anaesthetic substances on cephalopods: Summary of original data and brief review of studies over the last two decades. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 447: 23-30.
- Polese, G., W. Winlow y A. Di Cosmo. 2014. Dose-dependent effects of the clinical anesthetic isoflurane on *Octopus vulgaris*: A contribution to Cephalopod welfare. *Journal of Aquatic Animal Health*, 26: 285-294.