

151
2eje.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA
VETERINARIA Y ZOOTECNIA

USO DE ANTIFUNGALES EN LA PISCICULTURA:

ESTUDIO RECAPITULATIVO

**TESIS PROFESIONAL
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE**

MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

PRESENTA

**LUIS PEREZ HERNANDEZ
Asesor de Tesis Dra. Ana Auro de Ocampo**

México, D.F.

1994

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

LA PRESENTE REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA FUE REALIZADA EN LAS HEMEROTECAS DE: LA FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA, EL INSTITUTO DE CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGIA Y DEL INSTITUTO DE BIOLOGÍA. TAMBIÉN POR EL SISTEMA DE INVESTIGACIÓN BIBLIOGRÁFICA DEL CENTRO DE INFORMACIÓN CIENTÍFICA Y HUMANÍSTICA (CICH) DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO, ASÍ COMO DE TESIS DE LICENCIATURA DE LOS FUNGICIDAS.

ASESOR: DRA. ANA AURÓ DE OCAMPO

DEDICATORIA

A MI PADRE: *NICOLAS*

**ESPERO QUE TUS ENSEÑANZAS PERDUREN
A TRAVES DEL TIEMPO Y DEL ESPACIO
GRACIAS POR TU HERENCIA, AMOR
Y DEDICACION QUE TUVISTE CON NOSOTROS.
TU HIJO QUE SIEMPRE TE QUERRA,
HASTA SIEMPRE PADRE**

A MI MADRE: *JOAQUINA*

**QUE SIEMPRE NOS HAS BRINDADO TODA
TU DEDICACION Y AMOR Y CON ELLO
SE LOGRA LO MAS BELLO DE ESTE MUNDO
TU HIJO QUE TE QUIERE.**

A MI ESPOSA: MA. TERESA

**A TU LADO HE ENCONTRADO COMPRESION,
AMOR, AMISTAD Y JUNTOS HE MOS DE SER
MUCHO MAS QUE DOS,
GRACIAS POR PERFUMAR MI SER
CON TU EXQUISITO AROMA.**

A MIS HIJOS: CANDY Y LUIS MIGUEL

**CON TODA SU ALEGRA FORTALECEN
MI ESPIRITU Y ME MOTIVAN
A LA SUPERACION.**

A MIS HERMANOS: *NORMA LETICIA Y RUBEN*

**FOR LOS AÑOS QUE PASAMOS JUNTOS
Y LOS MOMENTOS DE FELICIDAD**

A MIS SUEGROS: *AMPARO Y LINDORFO*

**FOR LA SUERTE DE ENCONTRARME
CON PERSONAS COMO ELLOS Y
FOR EL APOYO QUE ME HAN
BRINDADO.**

A MIS CUÑADOS:

JORGE, GLORIA, YOLANDA, LUZ MARIA, SUSANA, IRMA, ALFREDO, PABLO.

A MIS MAESTROS

AGRADECIMIENTOS

A LA DOCTORA: ANA AURO DE OCAMPO

POR SU ASESORIA Y POR HABERME PERMITIDO LA REALIZACIÓN DE ESTE TRABAJO

AL DR. JORGE SUAREZ. LIC. ALFREDO SUAREZ E. ING. PABLO TRUJILLO

QUE ME AYUDARON EN EL LOGRO DE ESTA TESIS.

Y A TODAS LAS PERSONAS QUE DE ALGUNA MANERA COLABORARON EN EL LOGRO DE ESTE TRABAJO, ASI COMO A MIS MAESTROS POR HABER CONTRIBUIDO EN MI FORMACION PROFESIONAL.

CONTENIDO

	Página
I.- RESUMEN	1
II.- INTRODUCCION	2
III.- PROCEDIMIENTO	6
IV.- ANALISIS DE LA INFORMACIÓN	7
V.- LITERATURA CITADA	30

I. RESUMEN

Se consultó y analizó la información sobre fungicidas utilizados en piscicultura, sus restricciones y alternativas de uso, mediante búsqueda manual y computarizada en bancos de datos encontrándose que la combinación formalina - verde de malaquita es considerada el mejor tratamiento contra ficomicetos. Los tratamientos sistémicos con griseofulvina, furonace, piramicina requieren dosis altas y aunado su alto costo es una limitante para su uso rutinario. Los fungicidas a base de cobre mostraron una efectividad menor al verde de malaquita, otros como tamizados de amidas, aminas y compuestos catiónicos, ácido nalidíxico, anfotericina y nistatín mostraron pobres efectos micostáticos. Para la desinfección de equipo se recomienda el cloruro de benzalconio, formalina, fenol, permanganato de potasio y resiguard.

II. INTRODUCCIÓN

Frente a la necesidad de los acuacultores de erradicar los focos de infección y de la dificultad para emplear alternativas menos severas y costosas en tiempo y recursos que, por otra parte, no arriesguen la rentabilidad de los cultivos, el uso de sustancias químicas y drogas se ha difundido ampliamente ante la frecuente aparición y diseminación de enfermedades (6).

Con los sistemas de explotación piscícolas se ha incrementado la población de peces, debido a ello, el agua enriquece con gran cantidad de materia orgánica. La manipulación y sobrepoblación incrementa los traumatismos y provocan estrés en los peces lo que motiva que enfermedades que anteriormente eran poco frecuentes ahora tengan una incidencia elevada (15). Esto ocasiona que en los últimos años hallan aumentado la aparición de invasiones micóticas en los peces y en los huevos de los mismos en incubación. Aunque se reportan desde años atrás, se conoce muy poco acerca de los hongos que parasitan a los peces debido a su difícil identificación (3,4,15).

Entre los hongos que afectan a los peces los géneros Saprolegnia sp y Achlya sp son los más importantes por la frecuencia con que parasitan; siendo más comunes al final del otoño. El ataque de estos hongos y su desarrollo en las colonias de peces, esta relacionado con la pobre calidad del agua, así como en la baja de las defensas de los peces. Los peces que llegan a presentar algunas heridas, son los que más fácilmente se parasitan, los que no, no son infectados por los hongos (15).

De los géneros especificados el que más se conoce a nivel mundial es el de Saprolegnia sp., de él se encuentran aproximadamente 60 especies que afectan a los peces y a los huevos (10) causando mortalidades elevadas en ambos, acrecentando las pérdidas económicas en la industria piscícola, por lo que es importante tener como alternativa el tratamiento con agentes quimioterapéuticos (4).

Con los sistemas de alimentación con base en materia orgánica, la carga excesiva de animales, así como el uso de algunos quimioterapéuticos en un medio acuático, se favorece la transmisión de microorganismos patógenos, lo que provoca la pérdida en el equilibrio de la salud y la instalación de enfermedades (3). Los tratamientos no se pueden utilizar en forma individual ya que el trabajo que se invierte excede el valor del animal. Los tratamientos que se utilizan en piscicultura son con base en la medicina grupal, solamente cuando los tratamientos son muy onerosos y el problema no es significativo se puede utilizar el tratamiento en forma individual, aunque los dos métodos presentan riesgos de producir contaminación (3).

Algunos fármacos que se utilizan en las granjas piscícolas para el tratamiento de otras enfermedades se pueden quedar como residuos en los tanques, al irse acumulando estos residuos se contamina el ambiente. La institución que regula este tipo de controles es la Agencia de Protección Ambiental (EPA), y la Administración de Drogas y Alimentos (FDA) en los Estados Unidos (1,2,5,13,15).

Los quimioterapéuticos de uso común en las granjas piscícolas son muy pocos y se concretan a algunos desinfectantes para tanques y equipos; los iodóforos y

sulfonamidas contra furunculosis; cloramina, formalina y verde de malaquita se utilizan contra parásitos de la piel y problemas fungales (5). El verde de malaquita es un fungicida eficaz en el tratamiento de peces y huevos de peces. Ha sido usado durante más de 40 años por los piscicultores. Cuando este compuesto fue identificado como un teratogénico potencial, el Servicio de Vida Natural y Pesca de los Estados Unidos (FWS) restringió su uso en las incubadoras de peces nacionales. Sin embargo, dado que no hay un fungicida eficaz para reemplazar al verde de malaquita, la Administración de Drogas y Alimentos de los Estados Unidos concedió permiso para su utilización, empero requiere el seguimiento de ciertas medidas como: la conservación de registros precisos del éxito o fracaso de los tratamientos, número y especies tratados, inventarios y cantidades del verde de malaquita usados, la garantía de que los trabajadores estén protegidos y mencionando las medidas que se toman para prevenir dificultades con el uso del verde de malaquita en la incubadora del tipo efluente, así como un reporte anual (21).

Actualmente la formalina es el único fungicida de uso acuícola registrado y aceptado por la FDA que es eficaz aunque no es efectivo universalmente, lo cual dificulta el reemplazo del verde de malaquita (5).

En 1988 Schnick registró 39 químicos que pueden ser utilizados en acuicultura de agua dulce y marina, de los cuáles ocho han sido identificados como prioritarios y el número uno ha sido el de sustitución del verde de malaquita (21).

La medicina tradicional por su parte reporta algunas terapias que han tenido éxito como el Helenium quadridentatum (manzanilla) y el Allium sativum (ajo)

considerándolos como una alternativa (19).

Se examinó la información disponible sobre los fungicidas usados en la piscicultura, sus restricciones y alternativas de uso.

III. PROCEDIMIENTO

Se consultaron referencias obtenidas de publicaciones periódicas en las hemerotecas de: la FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA, del INSTITUTO DE CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGIA y del INSTITUTO DE BIOLOGÍA. También por el SISTEMA DE INVESTIGACIÓN BIBLIOGRÁFICA DEL CENTRO DE INFORMACIÓN CIENTÍFICA Y HUMANÍSTICA (CICH) de la UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO, así como de tesis de licenciatura de los fungicidas y en grupos según su principio activo. Se reporta un apéndice para la medicina tradicional.

IV. ANÁLISIS DE LA INFORMACIÓN

VERDE DE MALAQUITA

Entre los quimioterapéuticos de uso común en las granjas de peces están el verde de malaquita y la formalina que se distribuyen de manera adecuada contra parásitos de la piel y problemas fungales. Tal vez el más ampliamente usado y el más popular de estos químicos es el verde de malaquita (1), pero la revisión de las extensas documentaciones de este compuesto publicadas por Nelson y Seffans, muestran la enorme diversidad en el tiempo de exposición y concentraciones que sugieren diferentes trabajos. Al examinar las publicaciones originales, estas indican que la mayoría de los trabajos se efectuaron In Vivo en peces o huevos de peces, por lo que los factores de la calidad del agua pueden afectar a algunas de las dosis recomendadas. Sin embargo, de los trabajos publicados sobre el verde de malaquita en peces, sólo Lanzing realizó algunas tentativas para definir adecuadamente el mínimo de verde de malaquita en términos de pureza y formulación (1). Su uso ha sido muy amplio para el tratamiento de peces por más de 40 años, pero por sus propiedades teratogénicas y carcinogénicas se hizo una moratoria para su uso en criaderos federales de peces en E.U. lo que fue emitida por el US Fish and Wildlife Service en 1978 (4). Y aunque el verde de malaquita no está autorizado para su uso en peces en los E.U. este es silenciosamente anunciado allí para ese propósito (2). Pero a pesar de que es un fungicida que se ha usado desde 1936 (Foster y Woodbury 1936) son numerosas las confusiones y conceptos erróneos sobre este compuesto (Alderman 1982) (2). El verde de malaquita del mismo modo que la mayoría de las tinturas es conocido por un sinnúmero de sinónimos, la mayoría de estos son nombres comerciales (2).

El verde de malaquita es una tintura de diarilmetano y es un poderoso biocida el cual tiene un buen diferencial de toxicidad entre peces y parásitos externos (3).

Además de las variantes que resultan de diferentes sales, el verde de malaquita puede existir en dos formas iónicas; como tinte sal en forma de carbinol o pseudobase (carbinol base), y también como una pseudobase no ionizada. Albert (1979) mostró que las pseudobases de dichos tintes tienen una mayor liposolubilidad que los cationes mientras la pseudobase de esos iones entren en la célula. Se conoce la constante de ionización (pKa equivale a el pH en el cual un ácido o base es medio ionizado) de la mayoría de los tintes arilmetano. De acuerdo a Goldacre y Phillips 1949, el pKa del verde de malaquita es 6 a un pH 4-0 el verde de malaquita es 100% ionizado, 50% en pH 7-4 y 0% en 10-1 (2). Asimismo, Goldacre y Phillips (1949) dieron una indicación de la rapidez de reacción de equilibrio en valores de pH equivalentes a el pKa, que es el tiempo para la degradación de ionización de el descenso a medio camino del 100% hacia el valor de equilibrio en 2-1 para verde de malaquita. La velocidad constante de los rangos iniciales de la desaparición de los iones incrementa con el aumento del pH con tal que exista un exceso del ión, hidróxilo (2).

Estos factores tienen una doble significancia en términos del destino del tinte en el ambiente y en términos de problemas potenciales cuando la estructura terminada diluye la solución patrón con agua natural. La solución patrón de verde de malaquita terminada en agua alcalina, puede perder rápidamente una

significativa proporción de la actividad del tinte verde y relativamente también la proporción insoluble de carbinol. Por esta razón es obviamente ventajoso garantizar que la actividad de las concentraciones de verde de malaquita se usan brevemente después de que se separan las soluciones. Si las soluciones se retienen durante la noche estas puede conservar menos verde de malaquita que cuando se prepararon dependiendo de la composición del agua (2).

El destino del verde de malaquita en solución es convertirse en una base relativamente insoluble de carbinol. La luz reduce al verde de malaquita a un leucocompuesto, este tipo de reacción es muy lenta (2).

La conversión de carbinol en equilibrio se absorbe en la materia orgánica y toda la oxidación ocurre en grado que la suma de la tinción del ión libre presente en las emanaciones de las piscifactorías es pequeña en significancia al compuesto usado propiamente.

Por ejemplo: tratamientos de flujo a huevos en incubadoras involucran muy pequeñas cantidades de verde de malaquita aunque los volúmenes de agua implican que pueden ser grandes. Por cada 1000 litros de agua que se emplean en una incubadora, se requiere 1 g. de verde de malaquita para producir 1 ppm del tratamiento de flujo. La presencia de huevos muertos en la incubadora promueven el crecimiento de hongos, por lo que estos necesitan un tratamiento regular para el control en las varias semanas de incubación. El volumen de agua involucrada en el tratamiento de apéndices o peces adultos son mayores que los que se usan en las incubadoras, la frecuencia de los tratamientos es menor, y los períodos en que se

aplican son cortos. Normalmente adecuadas para el control de ectoparásitos o infecciones fungales por brote (2).

Frizhenko y Braun (1967) mostraron que el verde de malaquita es un veneno irreversible al contenido de enzimas thiol. Werther y Boiteaux (1967) trabajaron con mitocondrias aisladas del hígado de rata y mostraron un rápido efecto al verde de malaquita en la destrucción de la mitocondria. Esta destrucción se pudo prevenir con la administración preventiva de citocromo c (2).

El verde de malaquita aparentemente se absorbe dentro del pez por las agallas o a través de la piel, desintoxica al incoloro verde de leucomalaquita y se almacena en grasa. Subsecuentemente al congelamiento y almacenaje el verde de leucomalaquita se oxida lentamente a verde de malaquita en la superficie de la piel congelada. Poe y Willson demostraron que el bagre absorbe verde de malaquita y lo retiene en su piel e indican que se debe permitir un amplio tiempo para que se eliminen los residuos antes de que los animales sean destinados al consumo humano (17).

Glagoleva y Malikova (1968) establecieron que en cortos períodos de exposición del Salmón báltico y Salmón salar jóvenes al verde de malaquita resulta que en una masiva disminución de los linfocitos circulantes y concluyen que los probables efectos de inmunosupresión de estos compuestos fueron tan altos que no es recomendable su uso en los tratamientos rutinarios en los criaderos (4).

El estrés causa una linfocitopenia en la trucha café Salmo trutta (Pickering

1982) y este efecto es mediado por niveles elevados de cortisol en plasma en el pez (Pickering 1984). Al igual en la ausencia de estrés por manejo, la exposición de la trucha café a una sola dosis de verde de malaquita puede encubrir la causa de una significativa elevación de los niveles de cortisol en plasma (Pickering y Pottinger 1985) (14).

Por otro lado, una exposición diaria de verde de malaquita por cuatro semanas no tuvo efectos significativos en el hematócrito (Pickering 1985), ni en el conteo de los eritrocitos, trombocitos y linfocitos de trucha café. Sin embargo, el tratamiento con verde de malaquita suprime significativamente el conteo de neutrófilos ($P < 0.05$). Los niveles de cortisol en sangre fueron bajos (5 ng ml^{-1}) y no se alteraron por el tratamiento de verde de malaquita. (Los niveles de cortisol medidos 23 h después de la última dosis de verde de malaquita)(18).

Sin embargo éste fue significativo ($P < 0.01$) por encima del decremento en los niveles de cortisol en plasma a $< 2 \text{ ng ml}^{-1}$ durante el curso del experimento. El sexto de los peces no se afectó significativamente en ninguno de los parámetros medidos (14). El número de linfocitos circulantes y más de la mayoría de las otras células tipo en la sangre no se afectaron por tratamientos repetidos. El tratamiento diario de verde de malaquita causó una reducción en el número de neutrófilos, se debió a la pérdida de ectoparásitos. Es por esto que Pickering no apoya la conclusión de Glagoleva y Malikova (1968) de los efectos de inmunosupresión de este compuesto (14). Hlavey y Bulkley (1980) concluyeron que todos los reportes de cambios leucocitarios después del tratamiento con verde de malaquita pudieron ser atribuidos a un síndrome específico de estrés asociado al manejo con el mismo tratamiento (2).

Alderman (1985) enfatizó que la toxicidad del verde de malaquita a peces es fuertemente dependiente de la temperatura, ya que el tiempo de supervivencia de los peces lo redujo con el incremento de la temperatura del agua (3). En altas concentraciones el verde de malaquita es agudamente tóxico a los peces (Nelson 1974) (14).

Los más bajos anhídros de verde de malaquita, oxalato en concentraciones de los lotes pobres de tintura son razonables en necesidad de expresar los resultados claramente en términos de eficiencia por la unidad de los ingredientes activos de los compuestos, en el caso del verde de malaquita en el porcentaje de la sal tinte anhidra. Así también las diferentes especies de hongos pueden variar mucho en la sensibilidad a diferentes compuestos (1). Aunque el verde de malaquita tiene una pureza de grado industrial, el origen es probablemente tan bajo que el de calidad biológica.

La calidad de estos últimos puede ser extremadamente variable.

La variación en el contenido de los tintes puede ser de importancia si hay un cambio en el origen el tinte, en el uso o en la granja piscícola (2). En vista del gran potencial de variación no se conoce exactamente una dosis de tratamiento. Hoffman y Meyer (1974) en un amplio estudio de publicaciones recomendadas para el tratamiento de peces y huevos para controlar hongos y protozoarios mostraron más de 50 diferentes tratamientos de verde de malaquita recomendados por varios autores para el control de protozoarios y hongos, en muy diversos

casos los autores citan en esta lista simplemente al verde de malaquita, aunque algunos enfatizan que las sales de oxalato son preferibles y otros aconsejan comprar específicamente verde de malaquita libre de zinc para el uso en peces (2).

Otros estudios realizados por Arazaqui (1958) mostraron que una concentración baja de 0.02 ppm retarda el crecimiento de varios hongos (12). La destrucción completa el desarrollo de hifas tiene lugar en concentraciones considerablemente altas. Usando 24 - 72 h de tratamiento, Scott (12) recomienda una concentración de 2 ppm. Concentraciones de 3 y 2.5 ppm fueron muy efectivas, el 100% de mortalidad ocurrió sólo después de 60 minutos pero la muerte fue considerablemente más rápida después de iniciado el baño, 60% después de 5 minutos.

A 1.5 ppm 135 min. de baño fueron necesarios para el 100% de destrucción y se determinó un 37% de mortalidad después de 15 min. En 1 ppm el 100% de la destrucción no se obtuvo antes o en las 12 h, la mortalidad fue sólo de un 75% llegando a un valor del 25% en los primeros 5 min. Una concentración de 0.5 ppm prácticamente sin efecto a las 25 h. Las pruebas mostraron que concentraciones de 2 ppm producen un 100% de mortalidad en 1 h y 1.5 ppm resulta en muerte en 25 h (12).

El verde de malaquita se orienta a producir micostasis en 0.01 mg/l Bland, Ruch, Sasler y Lightner establecieron que 0.001 - 0.006 mg/l fue efectivo contra Lagenidium spp zoosporas y bien tolerada por larvas de langosta Panaeus californiensis. P. stylirostris y P. vannamei. Recientes estudios establecieron las

dosis efectivas de verde de malaquita que se aplican solamente en las miasis de larvas. El verde de malaquita probó alta efectividad contra Saprolegnia sp., Achlya americana y Pythium sp. pero en dosis de 2 mg /l (Scott y warren 1964) (9). El verde de malaquita es altamente efectivo y normalmente se le emplea como un tratamiento de flujo en 1.0 ppm sólo o en una combinación sinérgica con 20 ppm de formalina la Leteux/Meyer mezcla (Leteux y Meyer 1972) (3).

Todos los autores que recomiendan dosis de verde de malaquita no han prestado atención a la calidad del verde de malaquita ni a la temperatura con relación a la toxicidad, sólo Lanzing 1965 parece haber considerado dicho potencial (2).

Los peces de agua caliente son probablemente más sensibles a temperaturas de exposición elevadas. Sin embargo desde que Alderman y Polglase (1984) mostraron que el incremento de temperatura aumenta la toxicidad a parásitos semejantes a S. parasítica los tiempos de exposición de verde de malaquita y las concentraciones se pueden reducir sobre estas circunstancias (2).

La necesidad para los tratamientos con verde de malaquita fue correlacionada con las altas temperaturas que se desarrollan en la superficie del agua durante el verano. En las estaciones dónde la temperatura fue alta, el rango de mortalidad de los peces no tratados fue arriba del 80% sin embargo, las mortalidades fueron significativamente más bajas (5 - 30%) cuando se utilizó el verde de malaquita. Claramente los tratamientos con verde de malaquita son muy efectivos para la prevención de mortalidades en peces adultos (11).

A una sola concentración de verde de malaquita, la LD 50 (tiempo de exposición que produce el 50% de mortalidad) para la trucha arcoiris. En bajas temperaturas la tolerancia del pez es buena, a 8 grados centígrados los daños no fueron significativos por 1 h a 5 ppm de verde de malaquita, pero a 16 grados centígrados descendió a 50 min. y 40 min en peces tienen lugar en las incubadoras en un rango en termino bajo de temperatura. Sin embargo, es claro que un relativo descuido en el incremento de la temperatura puede convertirse de un tiempo seguro, tiempo/concentración, a un régimen capaz de producir mayor mortalidad (2).

Dado que el verde de malaquita es un fungicida efectivo en bajas concentraciones y es barato, este ejerce potenciales ventajas sobre los otros compuestos. 1) Provee un amplio margen de seguridad para un posible error de dilución en la práctica. 2) Tiene beneficios económicos cuando son necesarios largos periodos de aplicación. 3) Es reducida la probabilidad de toxicidad por aplicaciones repetidas o prolongadas y 4) Es reducido el riesgo de polución del agua al administrarlo al pez en trampa de río.

El verde de malaquita debería de usarse en aplicaciones tópicas o en inmersiones en soluciones bajas en el tratamiento del salmón. Esta decisión depende de la tolerancia del salmón a las concentraciones del fungicida (verde de malaquita), el uso profiláctico o terapéutico del fungicida y la habilidad del técnico para aplicarlo (8).

El continuo uso de verde de malaquita en el tratamiento de adultos y huevos es importante, pero peligroso en algunas especies de peces, por lo que es conveniente

el desarrollo de sistemas de remoción de este terapéutico de los afluentes del criadero. Los agentes oxidantes y reductores no son muy aceptables para el tratamiento de agua conteniendo verde de malaquita porque la estructura básica de la molécula permanece intacta (11). Es factible la remoción de verde de malaquita de agua tratada con carbón activado por filtración, se demostró que mallas de 8 X 30 de gránulos de carbón activado fueron efectivas para reducir a 1 ppm la concentración de verde de malaquita en agua a una concentración menor que 0.1 ppm durante 230 días de operaciones de simulación en un rango de flujo de 500 gal/min (6.4 gal/min ft²). El sistema de filtro de carbón es realmente provechoso para manantiales comerciales, 4 Oz de verde de malaquita se pueden remover por libra de carbón (11).

Los métodos para la aplicación del verde de malaquita son poco consistentes e imprecisos, por lo que es necesario que se hagan estudios para verificar concentraciones y duración de los tratamientos. Las cantidades que se usan de verde de malaquita se pueden disminuir si se optimizan los tiempos de exposición conservando las concentraciones en los niveles mínimos de efectividad (11).

El verde de malaquita también tiene actividad micocida contra hongos patógenos semejantes al Fusarium (Hatai, Nakajima y Egusa 1974) y Lagenidium sp (Armstrong, Buchanan y Caldwell 1976; Bland, Ruchs, Salzer y Lighther 1976; Lio-Po, Sanvictores, Baticados y Lavilla (1982). Esto también se reportó en combinación con la luz ultravioleta, que se utiliza para prevenir hongos y la contaminación por hongos de los huevos y larvas de langosta (Fisher, Nilson, Follet y Shleser 1976). Se estableció la tolerancia de Panaeus monodon al verde de malaquita en 24 h T150 (límite de tolerancia) de 0.12 ppm de la forma larval y

0.001 ppm para miasis y estado post larval (Lio-Po, Lavilla y Tillo-llobreral 1978). Esto indica una posible mortalidad que puede ser causada por toxicidad si se usan los presentes niveles de efectividad para el tratamiento profiláctico (10).

El rango de tratamiento recomendado para las langostas es entre 700 y 800 mg/l en un tiempo de exposición alrededor de seis minutos (7).

FORMALINA

En el pasado los parásitos fungales en peces y huevos se controlaban primero con verde de malaquita (Foster y Woodbury 1936, O-Donell 1941, Scott y Warren 1964, Knitell 1966, Martin 1968, Hodkinson y Hunter 1970, Horman y Meyer 1974, Nelson 1974, Wood 1974, Meyer y Hofman 1976) ó formalina (Steeffens 1962, Cline y Post 1972, Neish y Hughes 1980). Sin embargo, la sensibilidad de varias especies de hongos hacia el verde de malaquita y formalina no se habían investigado. (Olah y Farkas 1978). El uso del verde de malaquita fue restringido porque se estableció su potencial teratógeno (Seffen, Lieder, Nehring y Mattop 1961 Glagoleva y Malikova 1968). La formalina es el único terapéutico registrado en la Agencia Reguladora y Gubernamental de los E.U. para su uso como fungicida acuático aunque es universalmente efectivo (5).

El uso de la formalina como ectoparasiticida fue revisado por Schnick 1974 y Nelson (4) aporta que se le combina con verde de malaquita. Se realizaron extensos estudios para conocer su toxicidad particularmente durante el proceso de registro de la formalina para su uso en peces en los E.U. Bills, Marking y Chandler 1977, establecieron los valores de 96 h LC 50 para la formalina 12 grados centígrados para otras especies diferentes a los peces (11.8 ppm para trucha arcoiris y 17.3 ppm para salmón del atlántico). Para trucha arcoiris las 3 h LC 50 fue 123 ppm, donde las concentraciones normales de tratamiento de flujo son 25 ppm. La toxicidad incrementa con el aumento de temperatura pero no fue afectada por la calidad del agua, por factores semejantes a la dureza. Sills y Allen 1979 modificaron un método usado antes por Castell y Smith 1973 en tejido

curado de pez, dio recuperación de 36-62% y una sensibilidad de 5 mg/g en una prueba para demostrar la presencia de formalina en tejidos de peces experimentalmente tratados. Sills y Allen fueron incapaces de demostrar la formalina en músculo, hígado o plasma de salmón coho y salmón arcoiris expuestos a 300 ppm de formalina por 1 h (3,20).

La formalina es una solución acuosa saturada (37%) de gas formaldehído en agua y normalmente se le trata como un 100% de material de ingrediente activo para diluir (3). La formalina se usa como fungicida de huevos de peces y como un parasiticida tropical, se aplica por tratamiento de flujo (3,22).

En 1976 Olah y Farkas probaron setenta concentraciones de formalina entre 4080 y 238 ppm (las concentraciones están dadas en 40% formalina ppm) para determinar el acortamiento del período necesario para causar el 100% de mortalidad (LT 100).

En altas concentraciones de formalina, los valores para (LT 100 son muy cercanos uno de otro en la ecuación. Esto demuestra que con el incremento de los valores de dilución el LT 100 no se incrementa repetidamente. Sin embargo, las curvas no caen en la misma línea, pero corren paralelamente una de otra cambiando hacia el incremento de los tiempos de tratamiento. En el caso de formalina, es el valor comparando las curvas de LT 100 y LT 0. Las dos curvas corren sorprendentemente paralelas, la distancia entre estas es igual al tiempo durante el cual la formalina ejerce su efecto. Esto muestra que el espacio de tiempo entre LT 100 y LT 0 es corto y depende de la concentración de formalina, teniendo lugar después una larga o corta fase rezagada. Tomando en cuenta estos

descubrimientos se puede asumir que el efecto tóxico de la formalina se atrasa por un corto tiempo por alguna acción mecánica (pared celular) o por un sistema defensivo bioquímico de la célula. En la práctica la formalina se usa como un baño para los huevos de trucha en una concentración de 1666 ppm y con un baño de 15 min. (12).

Un tratamiento con Formalina-F en una dosis de 250 mg/l por 60 min resultó en solo 4% infestaciones y el 82% de los huevos incubados (15). Se recomienda el tratamiento de trucha, salmón y bagre de 25 ppm en estanques y 250 ppm por 1 h en canales así como también 2000 ppm por 15 min como fungicida en salmón, trucha y huevos (3).

El tamaño de los huevos es de considerable importancia con relación al subsecuente desarrollo del pez (Dahl 1918, Baganall 1969, Nikilsky 1969, Fowler 1972, Gall 1974, Pitman 1979). Sin embargo la práctica común en estudios de fecundidad es hacer medidas de huevos preservados en 10% de formalina (muchas veces por largo tiempo) sin considerar el posible efecto del preservativo en los huevos de peces. Taube 1976 reportó un pequeño cambio en el tamaño de los huevos de trucha café (Salmo trutta) que fue medido en 2-4 meses y 2 años después de preservarse en formalina 10%. En otra prueba, él mismo reportó que el huevo fresco de trucha aumenta de volumen después de preservarse por 11 y 25 días. Esto no era preciso por lo que Steven 1982 realizó un estudio midiendo los huevos preservados. Una muestra de huevo fresco de ovario de una Walleye de 50.5 cm colectado el 26 de abril de 1980. Los huevos se colocaron después en solución buffer al 10% de formalina y se midieron 30-36 huevos en intervalos de 5 días a 20 meses después.

Durante este período el diámetro de los huevos de Walleye varió solamente 0.03 mm (1.61 - 1.64mm) en 17 diferentes ocasiones no indicando cambios en el tamaño de los huevos como resultado de la preservación (16).

La formalina fue reportada como efectiva contra hongos de huevos (Mamdesley - Thomas 1972) y Lagenidium sp (Lio-Po 1982) pero este registro quedó en dosis indefinidas a los efectos neoplásicos reportados del formaldehído en ratas (Schnick y Meyer 1978). En los bioensayos experimentales con Panaeus monodon, se estableció en su tolerancia por las larvas, miasis y estados post-larvales en 5 ppm por 24 h de exposición (10). Verde de Malaquita y Formalina.

El uso de varias concentraciones de verde de malaquita y formalina contra hongos en peces es el método mejor conocido. A pesar de esto se ignora la sensibilidad de los cultivos puros al verde de malaquita, formalina y antibióticos así como también la relación cuantitativa con las dosis letal y el tiempo de tratamiento (12).

Olah y Farkas 1978 probaron combinaciones de verde de malaquita y formalina, éstas mostraron mayor efectividad contra Saprolegniasis. Los dos compuestos se evaluaron en 20 diferentes combinaciones. El tiempo necesario para LT 100 fue entonces mucho más corto que cuando los agentes fueron usados solos.

Es interesante notar que la combinación usada manifestó el mismo efecto temprano en bajas concentraciones el cual en ellos mismos fue inefectivo. La combinación usada de formalina y verde de malaquita es considerada como el

mejor remedio contra la saprolegniasis (12).

PH Y TEMPERATURA

Exámenes In Vitro han mostrado que cultivos de Saprolegnia son capaces de crecer en un amplio rango de pH y el número de cultivos limitado a un estrecho rango de pH es pequeño. En un medio ácido las colonias de Achlya crecieron bien, el mayor crecimiento a altas concentraciones de iones hidrógeno (pH 2.8). Los datos muestran que el pH básico es el óptimo para la mayoría de las colonias de Saprolegnia (12).

Los cultivos de Saprolegnia mostraron un crecimiento considerable, igual en 5 grados centígrados. El porcentaje de crecimiento fue mucho más rápido de 10 - 15 grados centígrados que en 5 grados centígrados. En 20 - 25 grados centígrados se presentó un repentino incremento de crecimiento y de las temperaturas que se examinaron 25 grados centígrados fue establecida como la óptima para el crecimiento. En 30 grados centígrados el crecimiento disminuyó y prácticamente paró en 35 grados centígrados. Los rangos de crecimiento de las colonias de Achlya fue apenas notable a 5 grados centígrados, el óptimo fue entre 25 - 35 grados centígrados y se detuvo solo a 40 grados centígrados. El seguimiento de arriba, los cultivos de Saprolegnia son de un amplio rango de temperatura, mientras que los cultivos de Achlya son más termofílicos (12).

OTROS ANTIFUNGALES

La inhibición de zoosporas y formación de vesículas por ácido bórico y Fungitox inicialmente fueron notables en 500 mg/l y 10 mg/l para la Griseofulvina (Lio-Po, Sanvictores 1982). La supresión de crecimiento de los micelos fue nula. Se demostró un efecto de fluctuación en el tamaño del crecimiento del micelio por el Piramicin, aunque las zoosporas se inhibieron a una dosis de 50 mg/l y 100 mg/l (9).

La Griseofulvina y el Furonace requieren altos niveles de dosis micostática por lo que se restringe su uso (9).

Se demostró el amplio espectro de actividad del Clotrimazole con Candida albicans. Sin embargo la Piramicina requiere de grandes dosis para ser micostático (9).

COMPUESTOS CATIÓNICOS

El Du-ter y el Oxícloruro Sulfato de cobre son los representantes de los compuestos catiónicos, son fungicidas agrícolas no sistémicos (Sumers 1967, Miller 1969, Sijpestejin 1977, Lyr 1977) (6). El Du-ter es un bloqueador efectivo de la producción del ATP (Fishbein 1977). El Oxícloruro Sulfato de Cobre se absorbe dentro de las hifas y es activo penetrando las esporas como un desacoplador de la fosforilación oxidativa (6).

Bailey (1983) considera que se le debe prestar una especial atención al Oxícloruro Sulfato de Cobre. Un estudio de los tratamientos usados en los criaderos de peces (no publicado) para controlar las infecciones fungales en peces mostró que el mayor uso fue en 15 min por corriente, inmersión o baño de huevos o 1 h de baño o baños de tratamientos en, los últimos estados de vida del pez. En la prueba la actividad antigungal después de 15 min. de exposición no difirió mucho de la mostrada después de 60 min (5).

La actividad antifungal de Oxícloruro Sulfato de Cobre fue menor al 50% que el verde de malaquita después de 48 h de incubación, pero bajó del 50%. Después de 96 y 168 h de incubación (6). El baño de Oxícloruro Sulfato de Cobre y Du-ter producen una actividad igual o mayor del 50% que la de verde malaquita con un 95% de confiabilidad después de 48 h de exposición (6).

Investigaciones en la Crosse National Fishery Research Laboratory (no publicado) mostraron que fungicidas iguales al Du-ter (5-10 mg/l) fueron letales a

huevos de trucha arcoiris después de 15 minutos min de exposición. Estos datos indican un bajo margen de seguridad para el tratamiento de huevos de trucha en Du-ter (6).

Los fungicidas que contienen cobre generalmente requieren altas concentraciones para ser fungicidas (Somers 1967) y son más importantes como agentes fungostáticos (Richmond 1977). Excesivas concentraciones de Oxícloruro de Sulfato de Cobre serían requeridas para tener un control efectivo de hongos patógenos con huevos de peces. el uso de altos niveles incrementa la probabilidad de matar peces y huevos (6). Se requieren concentraciones mayores de 1000 mg/l para la actividad fungicida cuando el Oxícloruro de Cobre fue probado en huevos de trucha infectados con hongos (6).

El cuprimixin un compuesto catiónico y el roccal II (Cloruro de Benzalconio) un compuesto cuaternario de amonio (catiónico) fueron iguales en su actividad contra hongos acuáticos. Por lo general, el Roccal II se usa como un desinfectante de superficies, pero tiene algunas propiedades antifúngicas (Likens 1971, Lio-Po 1982). El cuprimixin es activo contra algunas bacterias, hongos y levaduras (Maestronc 1976). El Roccal y Cuprimixin tuvieron una actividad considerablemente más baja contra los hongos acuáticos que el verde de malaquita (6).

AMINAS Y AMIDAS

Aunque los compuestos catiónicos muestran ser más prometedores como compuestos fungicidas acuáticos, las aminas y las amidas no fueron totalmente descuidadas. Hueck (1966) reportó que 12 carboaminas tuvieron alta actividad antimicrobiana. Clark y Hans (1961) descubrieron que el halógeno substituyó a las nitroaminas, particularmente los análogos al dicloro también mostraron alta actividad. La actividad de los compuestos amida puede ser mejorada con fenyl (Edgington y Barron 1967) o simultáneamente Clorine y substitutos de nitrato (Shomova 1965) consecuentemente este grupo fue interesante por su potencial así como por su origen para fungicidas acuáticos. Además se ha autorizado el tamizado de amidas, aminas y compuestos catiónicos.(6).

ANTIBIÓTICOS

Olah y Farkas (1978) probaron con 33 antibióticos según la escala de inhibición más significativa lo produjo solamente el ácido nalidíxico, las tetraciclinas y sus derivados tienen pequeños efectos (12),

Lio-Po (1985) reporta que entre los antibióticos sistémicos probados anfotericina y nistatin mostraron muy pobres efectos micostáticos (9).

El permanganato de potasio y el azul de metileno ambos afectan la liberación de zoosporas y el crecimiento de hifas, la dosis usada fue de 10 mg/l y 0.5 mg/l respectivamente. El nitrato de econazole rindió similares efectos en 0.5 mg/l en Lagenidium sp. (9).

El cloruro de benzalconio, formalina, fenol, permanganato de potasio y Resiguard son micocidas en bajas concentraciones y quizá, se les pueda considerar para desinfección de equipo (9). Aunque el permanganato de potasio en 3 ppm es registrado para su uso.

V. LITERATURA CITADA

- 1.- Alderman, D.J.: In vitro Testing of Fisheries Chemoterapeutants. Journal of Fish Diseases., 5: 113-123 (1982).
- 2.- Alderman, D.J.: Malachite Green: a Review. Journal of Fish Diseases., 8: 289-298 (1985).
- 3.- Alderman, D.J.: Fisheries Chemoterapy: A Review. Recen Advances in Aquaculture., 3: 1-61 (1988).
- 4.- Bardach, J.E. Ryther y J.A. y Maclarney, W.O.: Acuacultura. AGT Editor. S.A. México, 1986.
- 5.- Bailey, T.A.: The Screening Fungicides for use in Fish Culture: evaluation of the Agar Plug Transfer, Cellophane Transfer and Agar dilution Methods. Prog. Fish-cult., 45:24-27 (1983).
- 6.- Bailey, T.A.: Method for in vitro screening of Acuatic Fungicides. Journal of Fish Diseases., 6: 91-100 (1983).
- 7.- Bailey, T.A.: Efects of twenty-five Compounds on species of Aquatic Fungi (Saprolegniasis) Pathogenic to Fish. Aquaculture., 38:97-104 (1984).
- 8.- Bohen, A.D.: Sensitivity of Juvenile Lobsters, Homarus americanus L., to different concentrations of malachite Green during various states of the intermoult cycle. Journal of Fish Diseases., 9:243-248 (1986).

- 9.- Herwik N: Handbook of Drugs and Chemical used in the treatment of Fish Diseases. Charles C. Thomas, E.U., 1979.
- 10.- Hodkinson M and Hunter A: Growth Control of Saprolegnia form UDN-infested Atlantic salmon Salmon salar L. J. Fish Biol., 3: 245-248 (1970).
- 11.- Lio-Po G.D., Sanvictores M.E.G., Baticados M.C.L. and Lavilla: In vitro effect of fungicides on hyphal growth and sporogenesis of Lagenidium spp. isolated from Panaeus monodon larvae and Scylla serrata eggs. Journal of Fish Diseases., 5: 97-112 (1982).
- 12.- Lio-Po, G.D., Baticados, M.C.L., Lavilla, C.R., and Sanvictores: In vitro effects of fungicides on Halphthoros philipinensis. Journal of Fish Diseases., 8: 359-365 (1985).
- 13.- Marking, L.L., D., and Davis, J; Development of a Carbon Filter system for removing Malachite Green from Hatchery effluents. The Progressive Fish-Culturist., 52: 92-99 (1990).
- 14.- Márquez López. L.E.: Estudio preliminar sobre la eficiencia fungicida del Helenium quadridentatum en la eliminación de micosis ocasionadas por oomicetos en Salmo gardnieri Richardson y su inocuidad para la dermis afectada. Tesis de Licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. de la UNAM. México, D.F. 1990.

- 15.- Olah, J. and Farkas J.: Effect of temperature, pH, Antibióticos, Formalin and Malachite Green on the growth and survival of Saprolegnia and Achlya parasitic on fish. Aquaculture., 13: 273-288 (1978).
- 16.- Pérez Salmerón L.A. y Auró de Ocampo A.: Enfermedades de importancia en Piscicultura Comercial. U.N.A.M., México 1990.
- 17.- Poe, E., William and Willson, R.P.: absorption of Malachite Green by Channel Catfish. Prog. Fish-Cult., 45: 228-229 (1983).
- 18.- Pickering, A.D. and Pottinger, T.G.: Acclimation of the brown trout, Salmo trutta L., to the stresses of daily exposure to Malachite Green. Aquaculture., 44: 145-152 (1985).
- 19.- Ramos Alcantara J.C.: Utilización del ajo (Allium sativum L.) para el tratamiento de la Saprolegniasis en trucha arcoiris (Salmo gairdneri). Tesis de Licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. de la U.N.A.M. México, D.F. 1990.
- 20.- Roberts, R.J.: Patología de los peces. Mundiprensa, España (1981).
- 21.- Schnick, R.A.: The impetus to register new therapeutants for Aquaculture. The Progressive Fish-Culturist, 50: 190-196 (1988).

22.- Steven, L.S.: Influence of Formalin on Size of Walleye Eggs. Prog. Fish. Cult., 44: 149 (1982).