



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA

---

---

Laboratorio de Ecología de Peces

"Uso de la formalina, ozono y luz ultravioleta como medios profilácticos para la incubación y eclosión de huevos de las carpas *Cyprinus carpio specularis* y *C. c. rubrofuscus* y del pez ángel *Pterophyllum scalare*"

**TESIS DE INVESTIGACIÓN**  
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

**BIÓLOGO**

PRESENTA:

**ARTURO LÓPEZ GÓMEZ**

**M. en C. Adolfo Cruz Gómez**

Director de tesis

**Biol. Asela del Carmen Rodríguez Varela**

Co-directora de tesis

Los Reyes Iztacala, Tlalnepantla, Edomex. 2011





Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**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 esta 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.



**El presente trabajo se realizó en el Laboratorio de Ecología de Peces a cargo de los profesores M. en C. Adolfo Cruz Gómez y Biol. Asela del Carmen Rodríguez Varela y fue financiado por la UNAM, a través de la carrera de Biología de la FES Iztacala, por el Programa de Apoyo a Proyectos para la Innovación y Mejoramiento de la Enseñanza (PAPIME) de la DGAPA Proyecto EN203804 y por el Programa de Apoyo a los Profesores de Carrera para Promover Grupos de Investigación (PAPCA), instituciones y laboratorio a los que agradezco su apoyo.**

## **AGRADECIMIENTOS**

***A mi maestro, asesor y director M. en C. Adolfo Cruz Gómez, por todo su apoyo, enseñanzas, confianza y paciencia en la realización de éste proyecto de tesis, por todo su compromiso, dedicación y constancia le estoy muy agradecido.***

***A mi asesora y co-directora Biol. Asela del Carmen Rodríguez Varela por sus valiosas observaciones, enseñanzas y sugerencias, para mejorar este trabajo.***

***A mis sinodales Dr. Arturo Rocha Ramírez, M. en C. Rafael Chávez López y Biol. José Luis Viveros Legorreta, por sus apreciables observaciones y sugerencias para hacer posible este proyecto.***

***Al personal de la granja Tezontepec, Hidalgo por las facilidades otorgadas para la realización de este trabajo.***

## **DEDICATORIAS**

***A la memoria de mi tía Francisca, su hijo Manuel y la bisa Eugenia.***

***Dedico este trabajo a mi esposa Sandra, que sin su ayuda, comprensión y apoyo no hubiera sido posible. Te amo.***

***A mis hijos Claudia y Manuel, les doy las gracias por haber llegado a mi vida dándome agradables momentos y quienes esperan mi regreso.***

***A mis padres Alfredo y Margarita por su apoyo incondicional y dedicación en todos estos años.***

***A mis hermanos Alfredo, Rosalva y Verónica, por todos aquellos momentos en los cuales compartimos alegrías y tristezas, gracias por su apoyo***

***A mi tío Pánfilo, por enseñarme desde niño la curiosidad por la naturaleza y a respetarla.***

***Con mucho cariño para: mi suegra Velia, Tía Sonia, Sr. Ignacio, Sra. Chati, Salvador, Tia Lupe, Tia Lucia, muchas gracias por sus palabras y su apoyo.***

***A Daniel, Braulio, Alberto y a todas las personas que me motivaron y ayudaron a terminar este trabajo.***

***A Dios, por brindarme la gran oportunidad de vivir e iluminar mi mente para concluir este trabajo***

## ÍNDICE

<b>I. RESUMEN.....</b>	<b>1</b>
<b>II. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>2</b>
<b>III. ANTECEDENTES.....</b>	<b>6</b>
<b>IV. MATERIAL Y MÉTODOS.....</b>	<b>10</b>
<b>3.1 Implementación de la peceras incubadoras y sistemas profilácticos.....</b>	<b>10</b>
<b>3.1.1 Implementación sistema control.....</b>	<b>12</b>
<b>3.1.2 Implementación sistema profiláctico con formalina.....</b>	<b>12</b>
<b>3.1.3 Implementación sistema profiláctico de luz UV.....</b>	<b>13</b>
<b>3.1.4 Implementación sistema profiláctico con ozono.....</b>	<b>13</b>
<b>3.2 Obtención de huevos.....</b>	<b>15</b>
<b>3.3 Conteo de huevos de peces después de los tratamientos.....</b>	<b>17</b>
<b>V. RESULTADOS.....</b>	<b>20</b>
<b>4.1 Resultados por especie.....</b>	<b>20</b>
<b>4.2 Resultados por tratamiento.....</b>	<b>27</b>
<b>VI. DISCUSIÓN.....</b>	<b>31</b>
<b>VII. CONCLUSIONES.....</b>	<b>38</b>
<b>VII. REFERENCIAS.....</b>	<b>40</b>

## RESUMEN

En el presente trabajo se presentan los resultados obtenidos del uso de la formalina, la luz ultravioleta y ozono en la prueba como agentes profilácticos en la prevención de infecciones y aumento en la eclosión de huevos de peces de las carpas *Cyprinus carpio specularis*, *C. c. rubrofuscus* y el pez ángel *Pterophylum scalare* en sistemas de recirculación. Para la investigación, se construyeron cuatro sistemas, uno como control y tres para la experimentación, uno de ellos con formalina al 0.06%, otro con luz UV a una dosis de  $8\text{mV}/\text{cm}^2$  y uno más con ozono a una concentración de 0.05 mg/seg. En el sistema control los resultados mostraron un alto porcentaje de eclosión, en promedio 58 % para las tres especies, infección del 11 % en promedio para las carpas y del 57.95 para el pez ángel y un porcentaje de huevos no eclosionados por abajo del 20 % para las tres especies. El sistema de formalina reportó 0% de infección pero también el mayor porcentaje de huevos no eclosionados, en promedio 51 %, el porcentaje de eclosión para las carpas fue en promedio del 62 % mientras que para el pez ángel fue de tan solo el 22.78 %. El sistema de luz ultravioleta reportó los mejores resultados en eclosión para las tres especies con un promedio de 71 %, infección en promedio de 8 % para las carpas, mientras que para el pez ángel ésta fue del 42.25 %. Finalmente, el sistema de ozono registró valores de eclosión en promedio casi del 80 %, infección de 4.78 % en promedio para las carpas y del 14 % para el pez ángel, el promedio de huevos no eclosionados fue del 11 %. Los datos demuestran, que en general, los mejores resultados se obtuvieron con el sistema a base de ozono, tanto en la eclosión como en los porcentajes bajos de no eclosión e infección, que si bien en el pez ángel son del 14 %, éstos son aceptables en comparación con los obtenidos del sistema de luz UV.

## II. INTRODUCCIÓN.

Hoy en día, la acuicultura es una actividad que está en continuo desarrollo en el ámbito mundial, pero este crecimiento depende en gran medida de la disponibilidad de una excelente calidad de agua. En este sentido, el uso de sistemas de recirculación para esta práctica, es un medio que se utiliza para disponer del agua más eficiente y limpia en los criaderos (Ng *et al.*, 1992; Bullock *et al.*, 1997).

Los sistemas de recirculación en la acuicultura pueden requerir de un proceso de desinfección interno para el control del crecimiento de poblaciones de bacterias patógenas y heterotróficas, así como para prevenir la propagación de patógenos en los sistemas utilizados (Hektoen *et al.*, 1995 y Summerfelt *et al.*, 2007). Muchos de estos microorganismos viven en los compartimentos que se localizan en la superficie, dentro del filtro biológico y en las tuberías y dentro de los recipientes de los sistemas de recirculación de agua, aunque también se encuentran dentro de la columna de agua (Summerfelt *et al.*, 2005).

Carral *et al.* (1992), mencionan que la incubación artificial de huevos bajo condiciones controladas, es una técnica de cultivo conveniente para la producción de juveniles de peces; sin embargo, la infección por hongos y bacterias en larvas y huevos continúa siendo la principal causa de problemas que ocasiona una alta mortandad en los criaderos. Los factores que pueden incrementar la incidencia de

infección son entre otras causas: una calidad pobre de agua, nutrición mala, manipulación, cambios repentinos de temperatura, periodo de desove y parásitos. Por otro lado Piper *et al.* (1982), mencionan a su vez, que los huevos incubados en altas concentraciones en los sistemas de cultivo proveen las condiciones ideales para la propagación de hongos, entre ellos algunos del orden *Saprolegnia* y otros hongos acuáticos que están presentes en los suministros de agua que surte a los criaderos, y que a menudo causan serios problemas de enfermedades y que también de acuerdo a Marking *et al.* (1994), estos pueden ser muy perjudiciales en cultivos intensivos y en sistemas con altas densidades de peces.

La mejor forma de prevenir la aparición de brotes epidémicos en una piscifactoría, es mantener condiciones estrictas de higiene, esto exige mantener todos los equipos de incubación, canales, tanques y estanques en uso tan limpios como sea posible, así como una limpieza y desinfección profunda. Los huevos muertos en las incubadoras deben de ser retirados de los cestos y bandejas, ya que de otro modo se desarrollarán hongos que pueden ocasionar pérdidas importantes. Casi todas las enfermedades que pueden afectar a los peces en las piscifactorías, son directamente atribuibles a la domesticación y a la densidad elevada de población que se mantiene en los cultivos dedicados a la producción de peces para consumo (Drummond, 1988) y de ornato.

Aunque los tratamientos químicos son útiles en el control de infecciones micóticas en huevos de peces, es una dificultad para los criaderos obtener altos éxitos de eclosión. Lo anterior ha causado un incremento en la necesidad de agua desinfectada tanto en la entrada como en la salida de los sistemas utilizados en la acuicultura y por lo mismo, se han creado filtros que tienen como objetivo eliminar microorganismos patógenos, desechos y sustancias tóxicas existentes en el agua (Bullock *et al.*, 1997). Entre los tratamientos más utilizados para la profilaxis de sistemas acuícolas se han utilizado preferentemente la formalina, la luz ultravioleta y el ozono.

En México, existe una gran variedad de especies de peces tanto de ornato, como el pez ángel *Pterophyllum scalare* (Schultze, 1823), como de peces de consumo entre los que encontramos principalmente la carpa espejo (*Cyprinus carpio specularis* Lacepede, 1803) y carpa barrigona (*Cyprinus carpio rubrofuscus* Linnaeus, 1758). Tanto el pez ángel, como otros peces de gran demanda en el mercado, presentan serios problemas de infección tanto por hongos como por bacterias en las granjas de producción, lo que influye directamente en la eclosión de los huevos. En diversas visitas a los centros de producción acuícola tanto en el estado de Morelos como en el estado de Hidalgo, este es un patrón común que señalan los encargados de dichos centros. En este sentido y tratando de buscar una alternativa que coadyuve en la prevención de infecciones en las puestas de peces así como aumentar la eclosión de los huevos en

sistemas de cultivo, en el presente trabajo se prueban la formalina, ozono y luz ultravioleta bajo el siguiente

#### **OBJETIVO GENERAL:**

“Uso de la formalina, ozono y luz ultravioleta como medios profilácticos para la incubación y eclosión de huevos de las carpas *Cyprinus carpio specularis* y *C. c. rubrofuscus* y del pez ángel *Pterophyllum scalare*”

#### **OBJETIVOS PARTICULARES**

- Determinar el porcentaje de infección de huevos de las carpas *Cyprinus carpio specularis* y *C. c. rubrofuscus* y del pez ángel *Pterophyllum scalare* mediante el uso de la formalina, ozono y luz ultravioleta.
- Determinar el porcentaje de eclosión de huevos de las carpas *Cyprinus carpio specularis* y *C. c. rubrofuscus* y del pez ángel *Pterophyllum scalare* mediante el uso de formalina, ozono y luz ultravioleta.
- Determinar el porcentaje de huevos no eclosionados de las carpas *Cyprinus carpio specularis* y *C. c. rubrofuscus* y del pez ángel *Pterophyllum scalare* mediante el uso de la formalina, ozono y luz ultravioleta.
- Determinar cuál es el mejor elemento profiláctico mediante el análisis de los resultados.

### III ANTECEDENTES

McAllister *et al.*, (1988), implementaron un dispositivo pequeño en la incubación de huevos en pequeña escala utilizando jarras de polietileno con tapa con capacidad de 1.48 L, el agua es suministrada por válvulas múltiples o individuales a través de tubos de plástico insertados en un orificio perforado en la tapa de cada contenedor y por debajo del contenedor un tubo de plástico, que drena el agua hacia los filtros. Por otro lado Brooks (1994), describe un aparato para el control de la producción y la incubación artificial de huevos de y larvas, la técnica se basa en movimiento constante durante la incubación en el cual, un tubo central sirve como bomba abastecedora de aire, dando un suave y lento flujo de agua. Los huevos se mantienen en una red parcialmente sumergida y suspendida en un contenedor de plástico cilíndrico de 15 L sin ningún medio profiláctico.

La formalina, en la historia de la acuicultura, se ha utilizado en diferentes tratamientos para el control de infecciones en los huevos, causadas por hongos y bacterias. Es en la actualidad, el único fungicida registrado, que está disponible para su uso en los cultivos de peces, pero hasta el momento, sólo se ha utilizado en huevos de salmón, trucha y esocidos (Marking *et al.*, 1994).

Burrows (1949), recomendó un tratamiento profiláctico para la incubación de huevos de trucha y de salmón, una concentración de 1000 ppm de formalina para el control de

hongos. Por otro lado, Cline y Post (1972) reportaron que el verde de malaquita funciona como fungicida a 150 ppm y la formalina a 150 ppm, exponiendo diariamente huevos de trucha marrón (*Salmo trutta*) y trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) por espacio de una hora. Los trabajos realizados por Marking *et al.* (1994), revelaron que de 21 químicos con actividad antifungal sobre especies del orden *Saprolegnia*, sólo la formalina, el peróxido de hidrogeno y el cloruro de sodio, en concentraciones de 1000 ppm, 500-1000 ppm y 30 000 ppm, respectivamente, son efectivas para prevenir la infección e incrementar el porcentaje de eclosión de huevos de la trucha arcoíris. Por otro lado Scheier *et al.* (1996), en su trabajo encontraron eficiencia de la formalina y el peróxido de hidrogeno con tratamientos de 1000-1500 µL/L y 500-1000 µL/L respectivamente, en el tratamiento de micosis producido por *Saprolegnia* sobre huevos.

Los tratamientos profilácticos más modernos utilizados en la actualidad en los criaderos de peces, son la luz ultravioleta y el ozono. La luz ultravioleta es el sistema más común usado para la desinfección en sistemas de cultivo, pero de acuerdo con Bullock *et al.* (1997), la turbidez y el crecimiento de algas o bacterias sobre la cubierta de la lámpara de UV, puede limitar su efectividad.

Generalmente los tratamientos de UV son practicados en los sistemas de cultivo que requieren grandes cantidades de agua. El foco de este sistema es la fuente de UV: una lámpara de vapor de mercurio donde la corriente eléctrica

pasa a través de la lámpara, excitando al mercurio y como los átomos de mercurio retornan a un estado de baja energía, ellos emiten la luz UV. Existen dos tipos de sistemas de luz UV usados en la acuicultura: el sistema suspendido y el sumergido. El sistema suspendido consiste en una serie de lámparas y reflectores que están de 10 a 20 cm sobre el agua que esta fluyendo. El sistema de UV sumergido está diseñado con un flujo de agua constante de alrededor de un tubo de cuarzo donde se encuentra la lámpara de UV (Landau, 1992).

El ozono es un gas azul, inestable, con olor fácilmente identificable. Se produce  $O_3$ , pasando  $O_2$  o aire seco a través de una corona de alto voltaje (4,000 a 30,000 voltios) entre dos electrodos (Buchan *et al.*, 2005). Es un desinfectante, porque es un agente oxidante muy poderoso, ha sido aplicado desde aguas residuales, acuarios hasta granjas de peces; específicamente el ozono es efectivo en problemas de naturaleza orgánica, su demanda ha ido aumentando debido a su fácil aplicación y su eficiencia germicida con bacterias, virus y hongos (Loopas, 1995; Rich y Vervalle, 1995<sup>a</sup>; Rich, y Vervalle, 1995<sup>b</sup>; Nathanson, 1996). Este gas es un excelente virucida y también bactericida, por la desintegración de las paredes celulares bacterianas. Se ha demostrado que el agua ozonizada puede ser peligrosa para algunos organismos, sin embargo, si el agua ozonizada es pasada a través de un lecho de carbón activado, pierde su toxicidad. La eficacia de la ozonación está directamente relacionada con la cantidad de contacto entre el gas y los microorganismos. Baja transferencia de  $O_3$  dentro del agua, da por resultado una

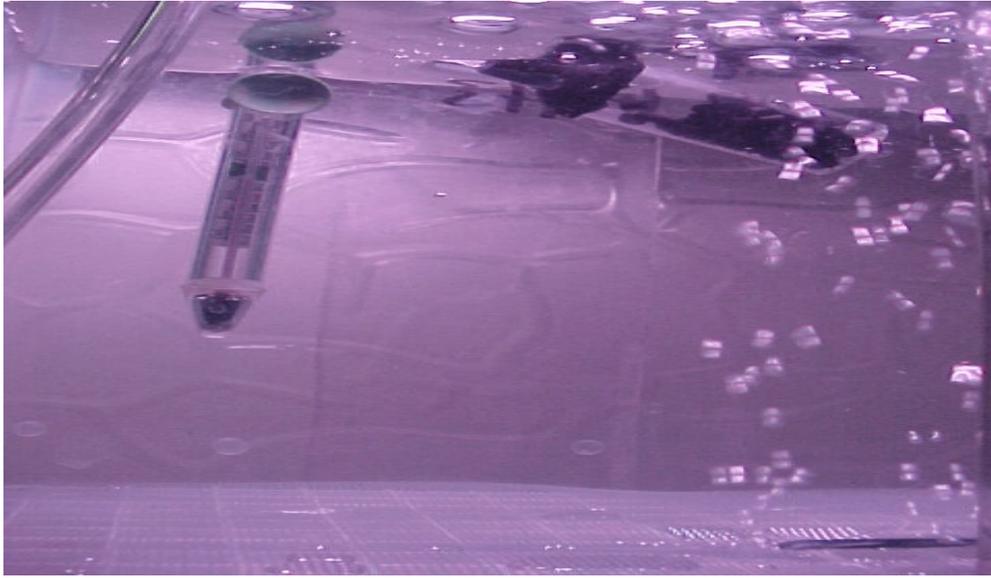
pobre eficiencia germicida. Varios métodos son usados para incorporar el agua y ozono, el más común es una simple inyección de este gas dentro del líquido usando un difusor (Landau, 1992). Bullock *et al.* (1997), utilizaron ozono en sistemas de recirculación de trucha arcoíris y sus resultados indican, que bajas proporciones de ozono (0.025 kg de ozono/kg de alimento) proveen beneficios reduciendo enfermedades bacterianas asociadas con la mortalidad de peces.

#### IV. MATERIALES Y MÉTODOS

##### *3.1 Implementación de las peceras incubadoras y sistemas profilácticos.*

Los equipos se instalaron en el laboratorio de Ecología de Peces de la FES Iztacala y consistieron en peceras rectangulares de 20 L con 17 L netos de agua que funcionaron como incubadoras. Cada pecera contenía una piedra aireadora de 10 cm de largo, un calentador de 5 watts en el caso de pez ángel y para los huevos de la carpa las peceras se mantuvieron a temperatura ambiente, así mismo, se colocó un termómetro de burbuja y una rejilla con malla de plástico (Fig. 1). Las peceras se distribuyeron en un anaquel de 2.20 m de alto por 0.92 m de largo por 0.31 m de ancho (Fig. 2). Por debajo de cada una de las peceras de 20 L, se colocaron peceras de 8 L con una bomba sumergible “Little Giant” con capacidad de flujo de agua de 239 L/h, que funcionaron como contenedoras para recircular el agua (Fig. 3). ). La bomba utilizada en los sistemas, tenía una capacidad de bombeo de 239 L/h a una altura de 30 cm, sin embargo la capacidad real en el sistema fue de 138 L/h, a una altura de 60 cm, por lo que, el flujo de agua en los sistemas fue de 2.3 L/min.

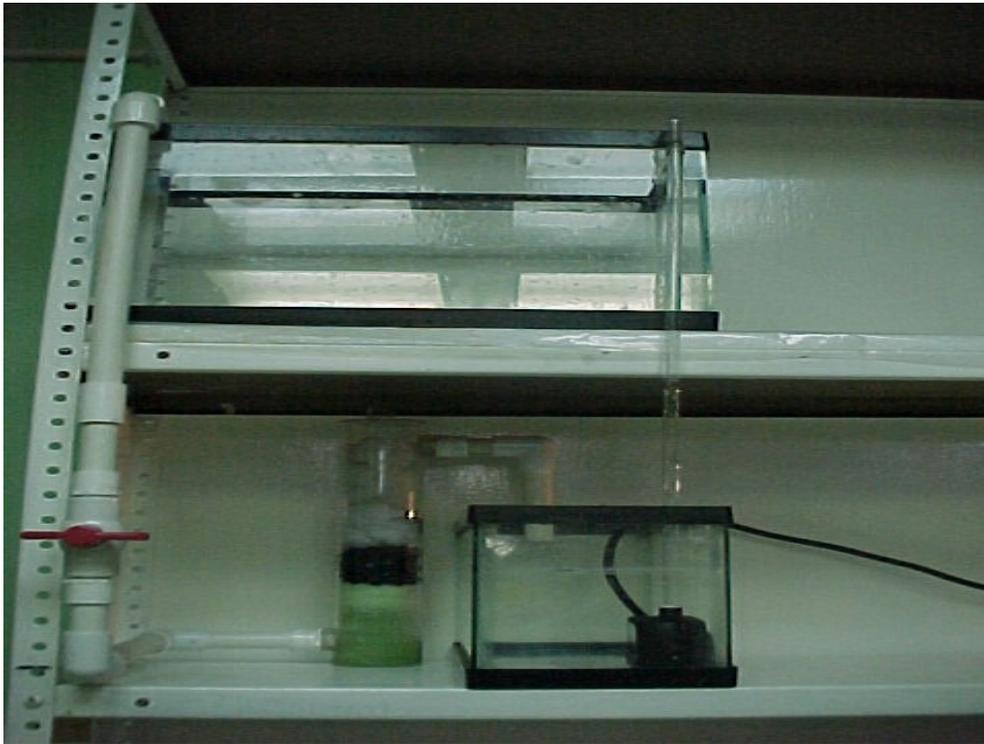
En cada sistema profiláctico se colocó un sistema de filtración mecánica y química que contenían una esponja, fibra de vidrio y carbón activado (Fig. 3



**Fig. 1.- Pecera incubadora donde se incluye termómetro de burbuja, calentador y rejilla con malla.**



**Fig. 2.- Anaquel metálico donde se distribuyeron las peceras contenedoras.**



**Fig. 3.- Sistema con pecera contenedora donde se encontraba una bomba sumergible, además de la filtración mecánica y química.**

### ***3.1.1 Implementación sistema control***

**En el sistema control solamente se hacía circular el agua durante el desarrollo embrionario de cada especie.**

### ***3.1.2 Implementación Sistema Profiláctico con formalina***

**Se utilizó formalina comercial al 30 % y la concentración utilizada fue de 1500  $\mu$ L/L (Rach et al., 1997) que llevados a mililitros nos da como resultado 1.5ml de formalina/L, por lo**

que, la concentración real de formalina por cada litro de agua que recirculaba en el sistema profiláctico fue de 0.06%.

Después del tratamiento con formalina, el agua utilizada se reemplazó por agua limpia (sin ningún agente profiláctico), además de esto, se proporcionó una aireación constante para que los residuos de la formalina se evaporaran.

### *3.1.3 Implementación sistema profiláctico de luz UV.*

Se utilizó un aparato germicida de luz UV marca “Insta Pura M.R. Water Quality Association M.R.”, Modelo: IP-4 con flujo máximo de 4 L/min, voltaje de 115/125V, 0.2 amperes, lámpara de 8 W y con una dosis de 8 mW/cm<sup>2</sup>. El aparato germicida se colocó sobre el anaquel después del filtro mecánico y antes de llegar el agua a la pecera contenedora y se mantuvo funcionando durante el tiempo que duraba el tratamiento hasta la eclosión (Fig. 4).

### *3.1.4 Implementación de sistema profiláctico con Ozono.*

Para el sistema con inyección de ozono, se utilizó un aparato ozonizador de agua marca “Biozon Fagor”, voltaje 127V-8w y frecuencia de 60Hz que proporcionó una concentración de ozono de 0.05 mg/seg.

Este aparato se colocó a lado de la pecera contenedora que se mantenía con 3 L netos de agua. Para ozonizar el agua se colocó dentro de la pecera una piedra difusora conectada al

ozonizador y se bombeó hacia la pecera incubadora, no sin antes pasar el agua por un cartucho de carbón activado el cual absorbió los residuos de ozono. Se aplicó en la pecera contenedora durante un tiempo de 21 min. (Fig. 5).



**Fig. 4 Sistema profiláctico de luz Ultravioleta.**



**Fig. 5.- Sistema profiláctico con Ozono (O<sub>3</sub>).**

### ***3.2 Obtención de huevos***

Los huevos de *C. c. specularis* y *C. c. rubrofuscus* fueron donados por parte de la Granja de Peces de Tezontepec, Hidalgo y la cantidad dependió de las puestas que hubiera en ese momento en la granja. Los huevos de estas especies se mantuvieron de acuerdo a las condiciones ambientales (físicas y químicas) en las que ocurrió el desove es decir; a una temperatura de  $20 \pm 1$  °C y pH de 8.2. Cabe mencionar que los huevos de *C. c. specularis* son de mayor tamaño y bentónicos que los huevos de *C. c. rubrofuscus* que son pequeños y adherentes (la puesta se encontraba en hojas de casuarina). En este último caso, se contaron el número de huevos de cada hoja y posteriormente se colocó en la pecera incubadora para su tratamiento con cada sistema. La tabla 1 muestra la cantidad de huevos colocados en cada tratamiento.

Los huevos de *P. scalare* se obtuvieron de parejas crecidas y aclimatadas en el laboratorio de Ecología de Peces, las cuales se mantuvieron en peceras de 35 L. Cada pecera contenía un aireador, un filtro de esponja, un calentador de 15 w y un tubo de PVC de 15cm de longitud. El agua se mantuvo a una temperatura del agua de  $27 \pm 1$ °C y pH 7.5 que son los requeridos del pez para su reproducción (Luna-Figueroa y Gómez, 2005) (Fig. 6).

La cantidad de huevos varió dependiendo de la madurez de la pareja. Se contó el número de huevos de cada puesta y

posteriormente se colocó en las peceras incubadoras y se aplicó el tratamiento profiláctico correspondiente, al cabo de la eclosión (alrededor de 48 horas después de la puesta) se contó el número de embriones eclosionados, además de los huevos sin eclosionar. La tabla 1 muestra la cantidad de huevos colocados en cada tratamiento.

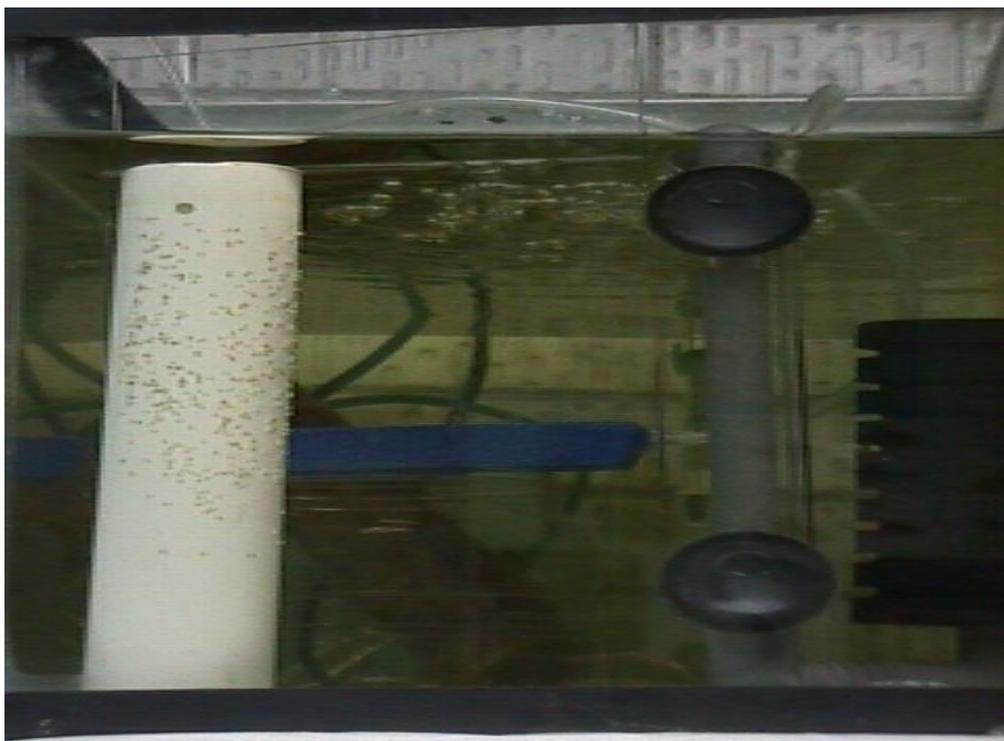


Fig.6 Huevos de *P. scalare* en pecera de 35 litros ubicadas en el laboratorio de Ecología de Peces FES Iztacala.

Durante el periodo de incubación se contó los huevos infectados y se retiraban. Un huevo estaba infectado, si presentaba una masa algodonosa alrededor de este (Saprolegniales) y de color blanco, además de observar protozoarios al microscopio. Un huevo no eclosionado se mostraba completo en su estructura, pero no se había

desarrollado por no haberse fertilizado en el momento de la puesta.

### *3.3 Conteo de huevos de peces después de los tratamientos.*

En el caso de los huevos de *C. c specularis*, el conteo se hizo directamente por observación con un tubo de plástico de 1cm de diámetro y con ayuda de un microscopio óptico (Fig.7).



Fig. 7 Conteo de huevos de *C. carpio rubrofusca* con tubo de plástico.

En el caso de *C. c. rubrofusca* se contó el número de huevos de cada hoja y posteriormente se regresaron a la pecera incubadora. Después de 72 horas los huevos

eclosionaron y se contó el número de larvas eclosionadas y los huevos infectados, eclosionados y no eclosionados.

Se hicieron observaciones diarias para detectar los huevos infectados en cada sistema.

Para el conteo de huevos de *P. scalare* se utilizó la técnica de conteo por área (método del cuadrado); para esto se empleó un vidrio rectangular cuadriculado con áreas de 1 cm<sup>2</sup> y con éste se contó el número de huevos de 10 cuadrados al azar y a continuación se obtuvo el promedio y se multiplicó por el área total ocupada con huevos (Fig.8).



Fig.8 Puesta de *P. scalare*, donde se utilizó para su conteo la técnica de conteo porcentual.

La tabla 1, muestra la cantidad de huevos utilizados para cada especie y tratamiento. Para el pez ángel el número de huevos por puesta varió pero fueron muy similares para los tratamientos y

sólo para la carpa barrigona se la mayor cantidad de huevos para hacer tres repeticiones no así para la carpa espejo.

Tabla 1.- Número de huevos por especie en cada tratamiento

	Grupo Control	Grupo Formalina	Grupo Luz UV	Grupo Ozono
Pez Ángel ( <i>P. scalare</i> )	920	255	277	282
Carpa Espejo ( <i>C. c. specularis</i> )	393	630	457	551
Carpa Barrigona ( <i>C. c. rubrofuscus</i> )	443	480	444	447
Carpa Barrigona ( <i>C. c. rubrofuscus</i> )	440	477	438	452
Carpa Barrigona ( <i>C. c. rubrofuscus</i> )	395	321	284	316

## V. RESULTADOS

### 4.1 Resultados por especie

#### Carpa Espejo (*C. c. specularis*)

En *C. c. specularis* se observó que el sistema con mayor porcentaje de huevos eclosionados fue el de luz UV con un 91.02%, seguido del sistema a base de ozono con 87.47 (Fig.9). El sistema control reportó un 73.28 de huevos eclosionados y un 65.07% de eclosión mostró el sistema a base de formalina.

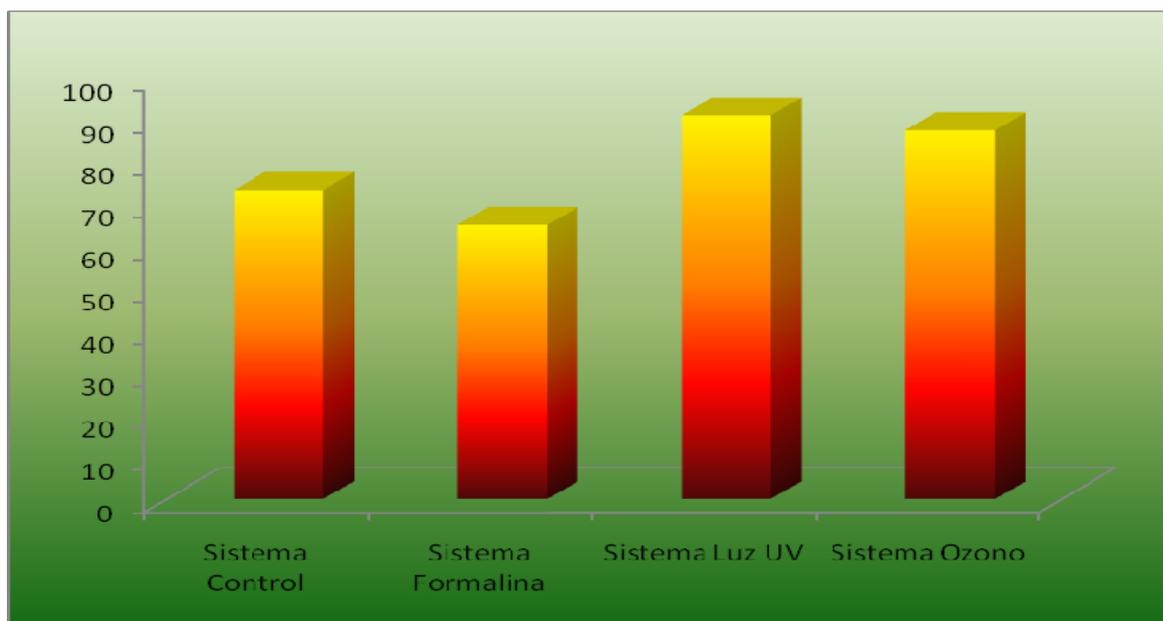


Fig. 9.- Resultados de porcentajes de eclosión para huevos de *C. c. specularis*.

El sistema con mayor porcentaje de huevos no eclosionados fue el de formalina con 34.93%. Con un 16.53% de huevos sin

eclosionar se observó en el sistema control. El sistema de luz UV sólo reportó un 1.53% de huevos no eclosionados y para el sistema de ozono se observó un 8.52% de no eclosión (Fig.10).

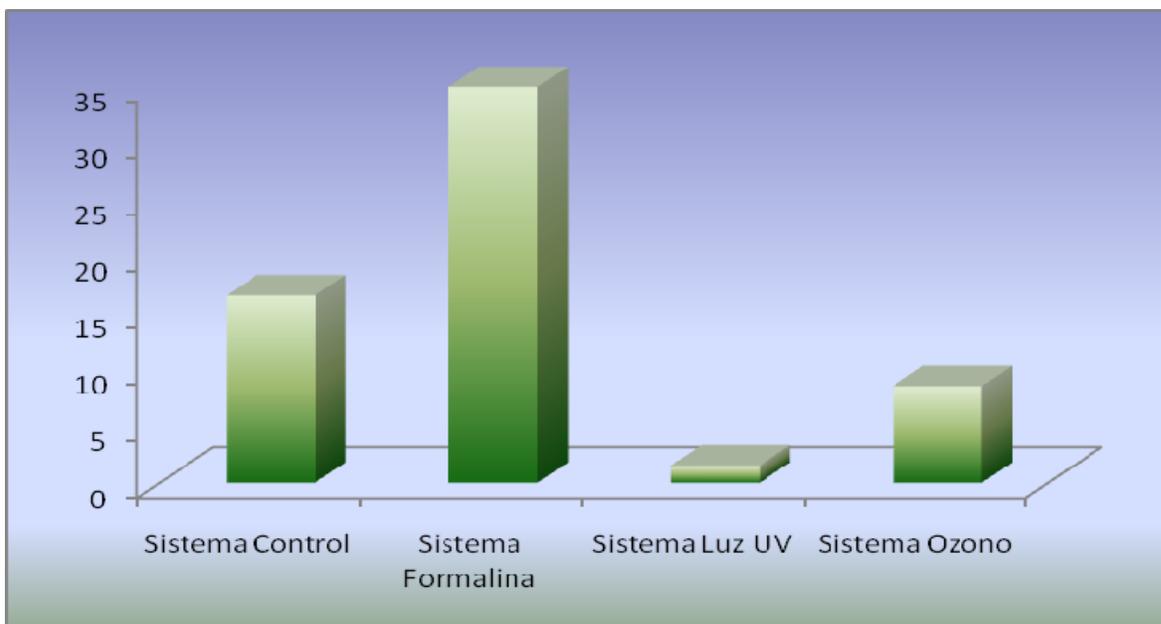
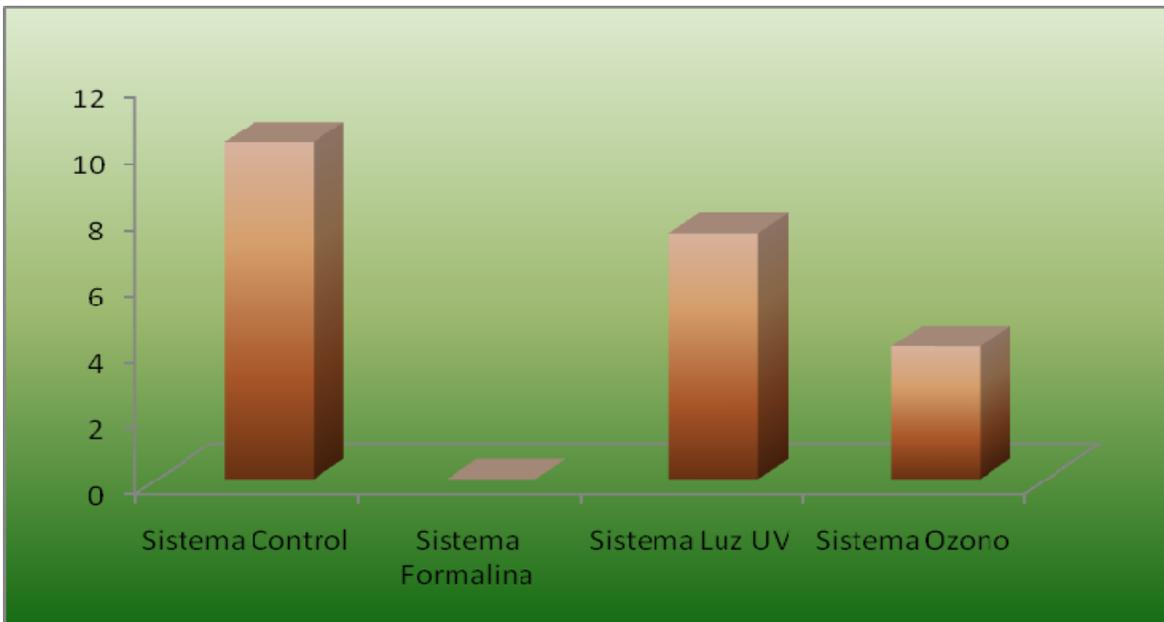


Fig. 10.- Resultados de huevos no eclosionados para *C. carpio specularis*, en los cuatro sistemas profilácticos.

En la figura 11, se aprecia que el sistema control tuvo mayor incidencia de huevos infectados con un 10.19%. Mientras que para el ozono resultó con sólo el 4.01% de infección y para el sistema de luz UV se reportó un 7.45% de huevos infectados. En el caso del sistema a base de formalina no se reportó infección en los huevos.

#### Carpa Barrigona (*C. c. rubrofuscus*)

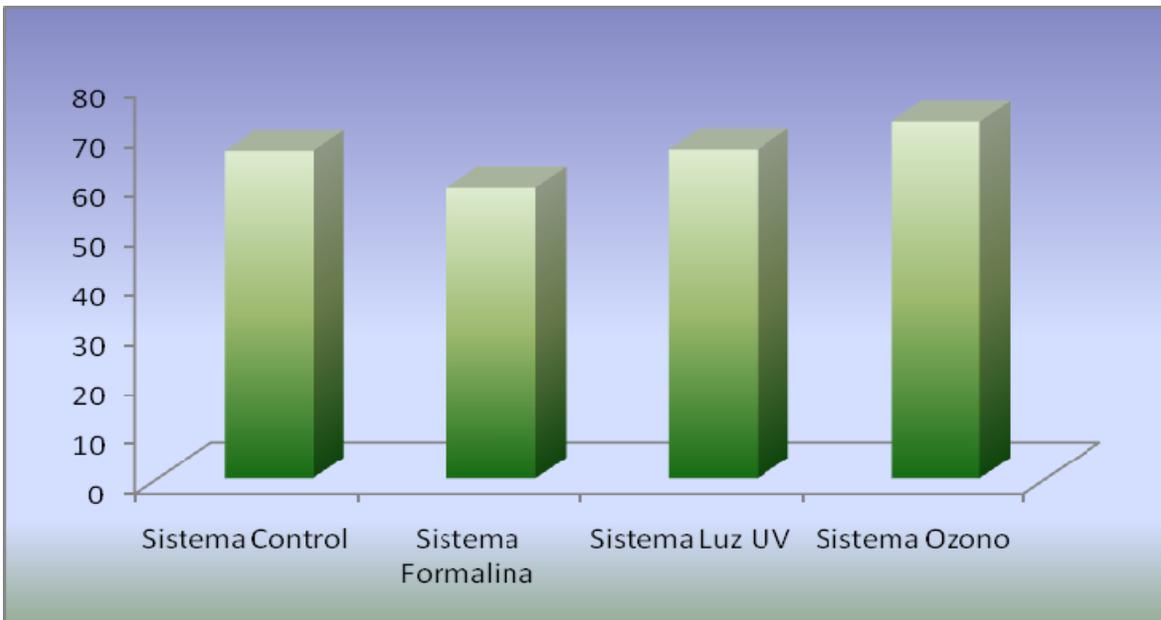
En la figura 12, se observa que para *C. c. rubrofuscus* el



**Fig. 11.- Resultados de porcentaje de huevos infectados en los cuatro sistemas para *C. c. specularis*.**

sistema con mayor eclosión fue el de ozono con 72.16%. Resultados similares se observan con los sistemas control y luz UV con un 66.2% y 66.5% respectivamente, en cambio para el sistema de formalina se registró sólo el 58.8% de huevos eclosionados. Para el caso de huevos no eclosionados la figura 13 muestra que el sistema a base de formalina tuvo el mayor porcentaje de huevos no eclosionados con un 34.2%.

En el sistema de luz UV se reportó un 24.83% de no eclosión y con un 21.16% el sistema control.

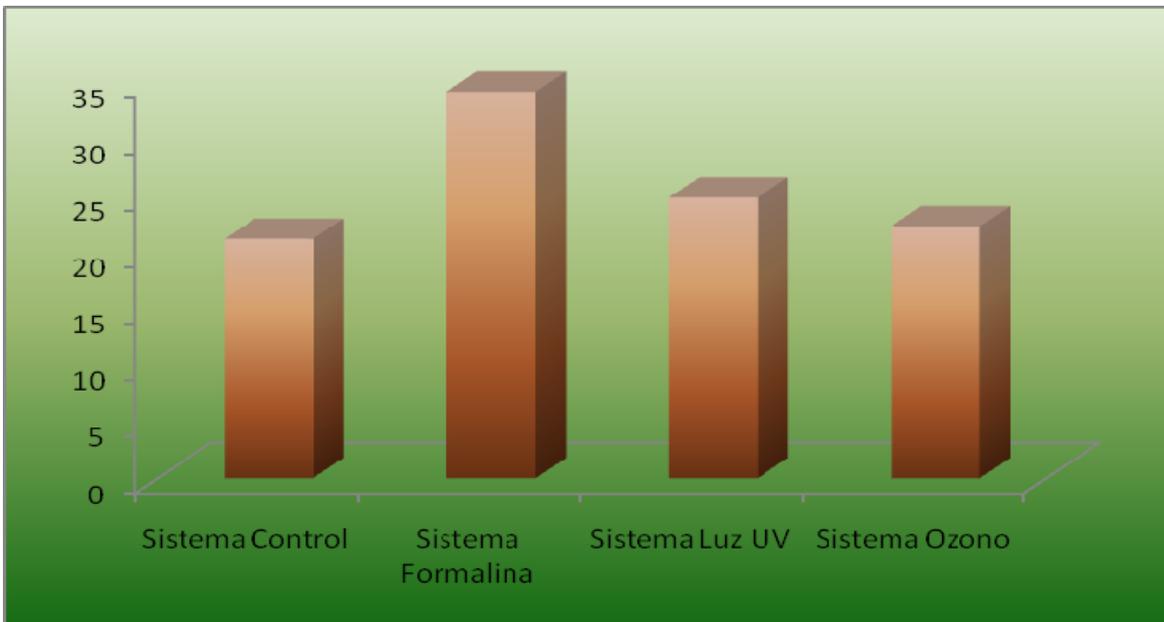


**Fig. 12.- Resultados de porcentajes de eclosión en los sistemas profilácticos para *C. c. rubrofuscus*.**

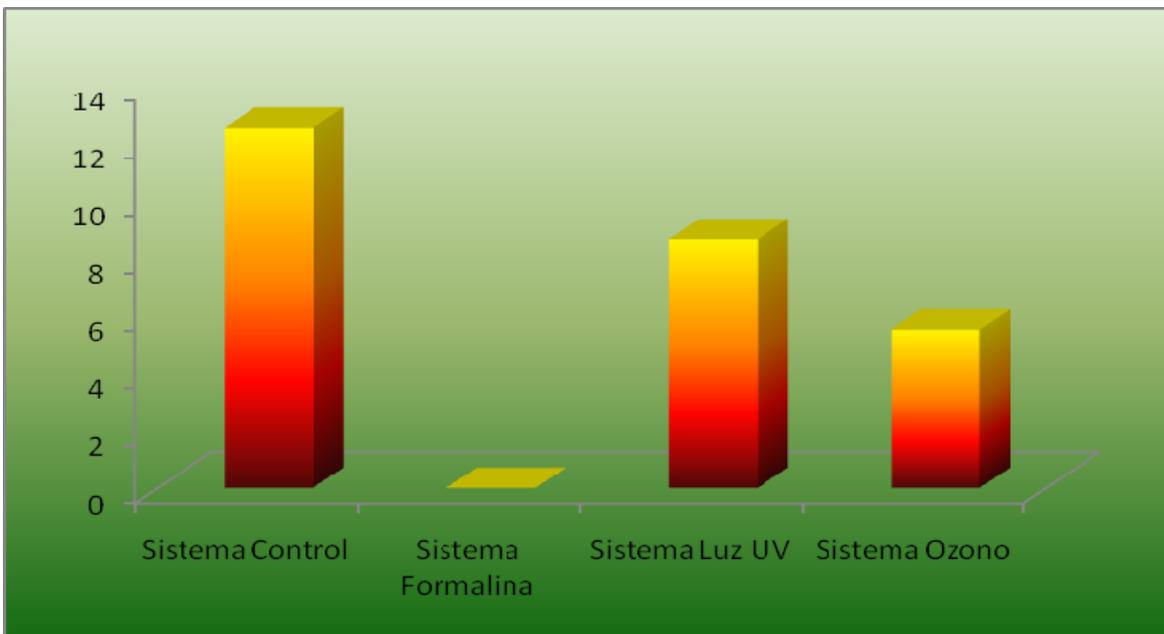
Finalmente, los resultados de huevos infectados que se observan en la figura 14, nuevamente el sistema a base de formalina presentó 0% de infección, mientras que, el sistema control obtuvo el mayor porcentaje de infección con un 12.5%. El 5.5% de huevos infectados se registró en el sistema con utilización de ozono, mientras que para el sistema de luz UV se obtuvo un 8.63 de huevos infectados.

**Pez Ángel (*P. scalare*)**

En la figura 15 se observan los resultados de *P. scalare* sobre huevos eclosionados, siendo el sistema de ozono el



**Fig. 13.- Resultados de huevos no eclosionados en los 4 sistemas para *C. c. rubrofuscus*.**



**Fig. 14.- Resultados de porcentaje de huevos infectados en la especie *C. c. rubrofuscus*.**

que obtuvo mayor porcentaje de eclosión con un 82.62%, el sistema a base de formalina fue el más bajo ya que solo se encontró un 22.7% de eclosión. Para el sistema de luz UV se registró un 57.03% de eclosión y finalmente en el sistema control obtuvo un 38.58%.

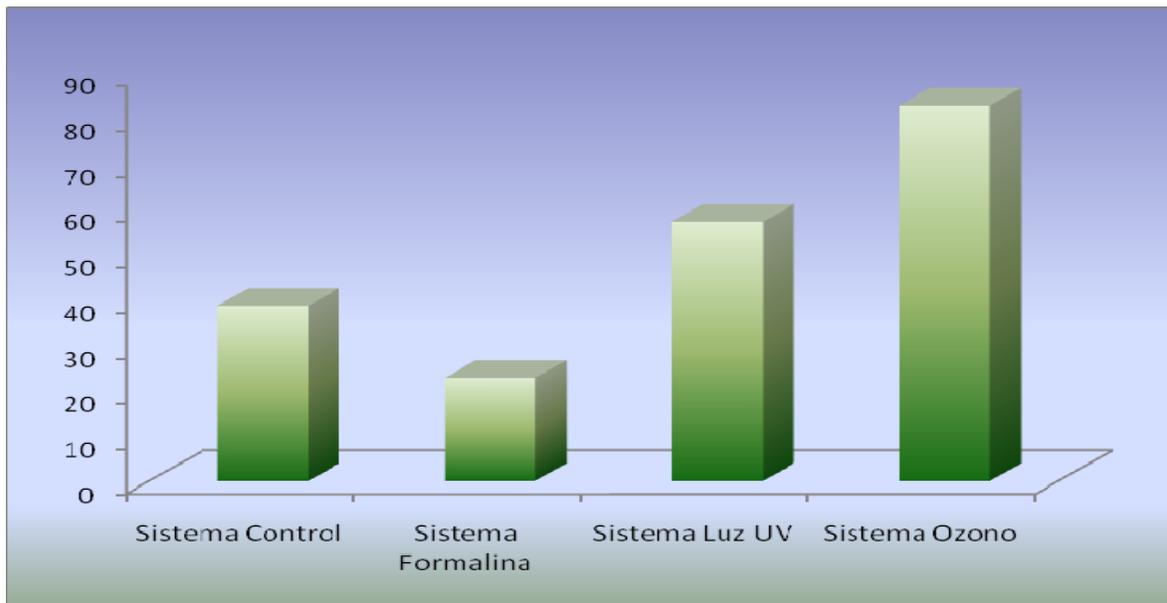


Fig. 15.- Resultados de la eclosión en huevos de *P. scalare* en los 4 sistemas.

En la fig.16 se presentan los resultados de huevos sin eclosionar donde se observa que el sistema a base de formalina registró el porcentaje más alto de no eclosión con un 77.26%. Para el sistema de luz UV solo el 0.72% de huevos no eclosionó. Mientras que el sistema control y ozono tuvieron porcentajes muy similares, de 3.47% y 3.19% respectivamente.

Como se observa en la figura 17, en el sistema a base de formalina no se registraron huevos infectados, pero se muestra un alto porcentaje de huevos infectados en el sistema control con 57.9%.

Para el sistema a base ozono se obtuvo una baja infección con un 14.19% y finalmente el sistema de luz UV, mostró un 42.25% de infección.

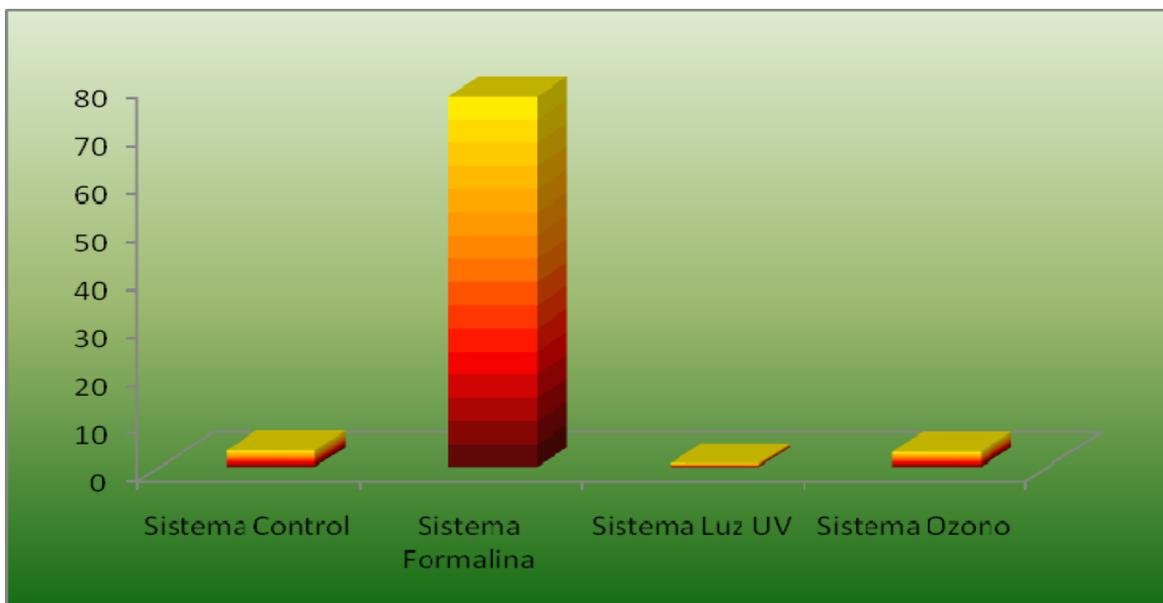
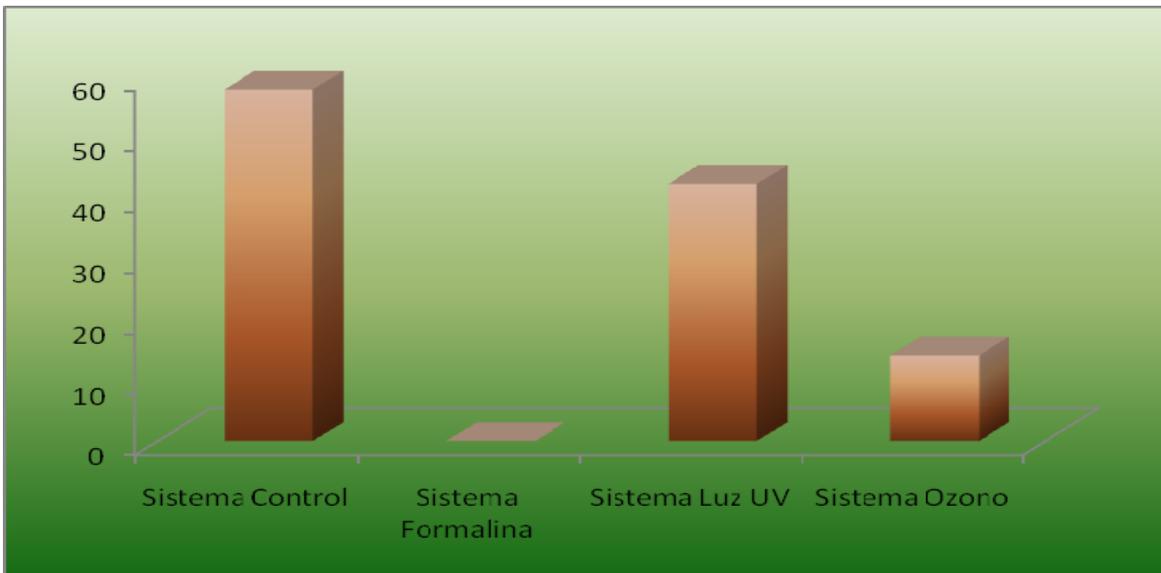


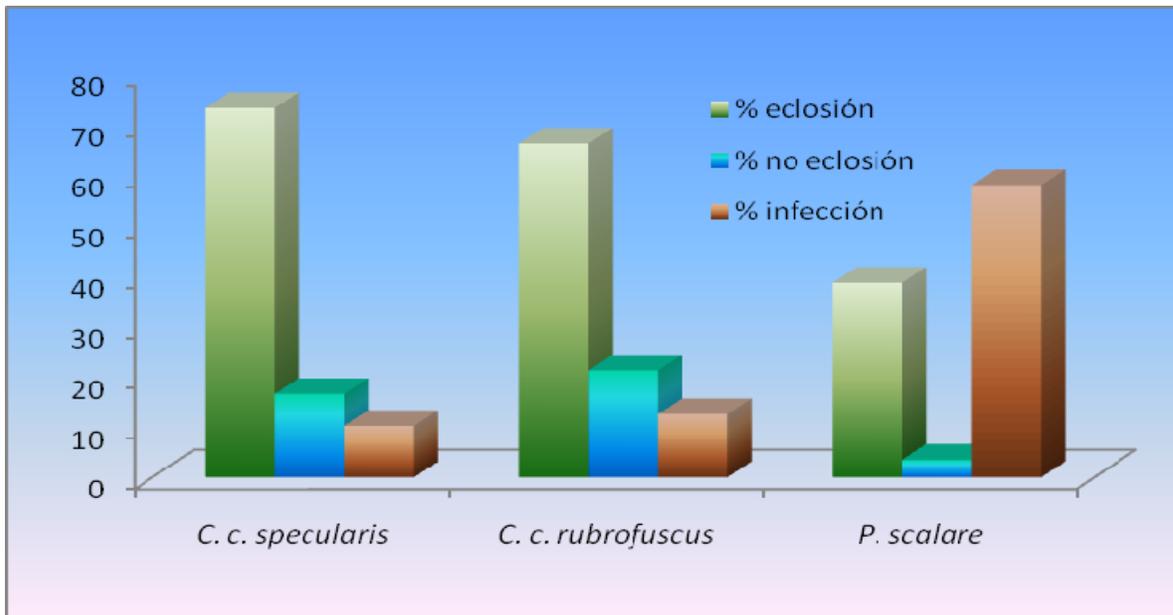
Fig. 16.- Resultados de huevos no eclosionados en la especie *P. scalare*, para los 4 sistemas profilácticos.



**Fig. 17.- Resultados de huevos infectados en los cuatro sistemas profilácticos para *P. scalare*.**

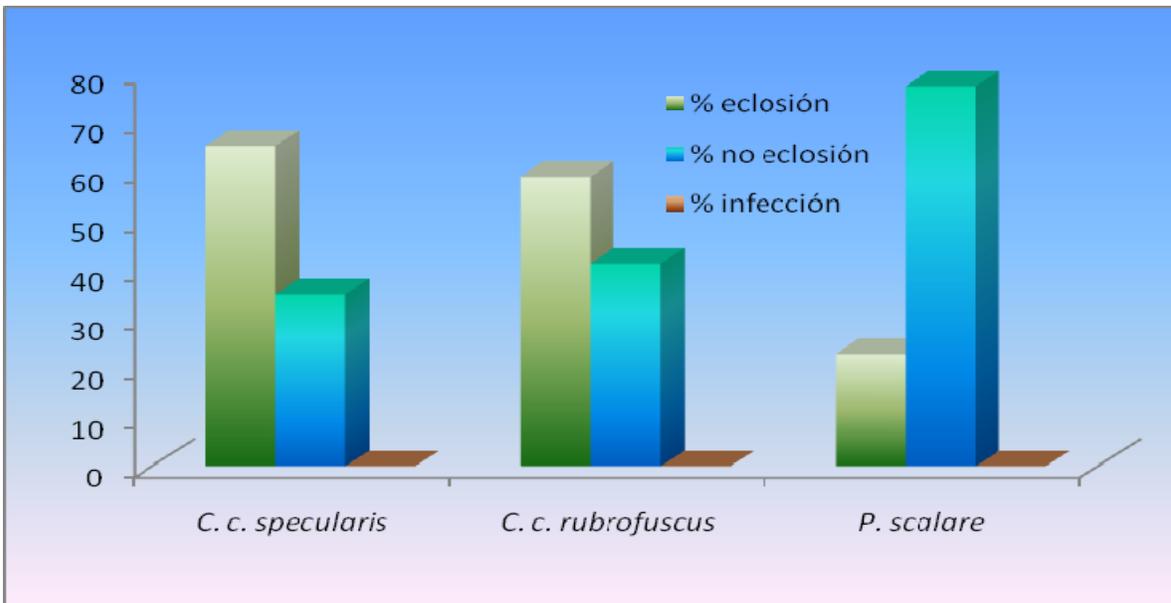
#### ***4.2 Resultados por tratamiento profiláctico***

**En el sistema control se puede observar (Figura 18), que los resultados muestran un alto porcentaje de eclosión tanto par *C. c. specularis* como para *C. c. rubrofuscus* pero no así para *P. scalare* quien además mostró el mayor porcentaje de infección comparativamente con las otras especies y tratamientos.**



**Fig. 18.- Resultados de las tres especies en el sistema control en *C. c. specularis*, *C.c. rubrofuscus* y *P. scalare*.**

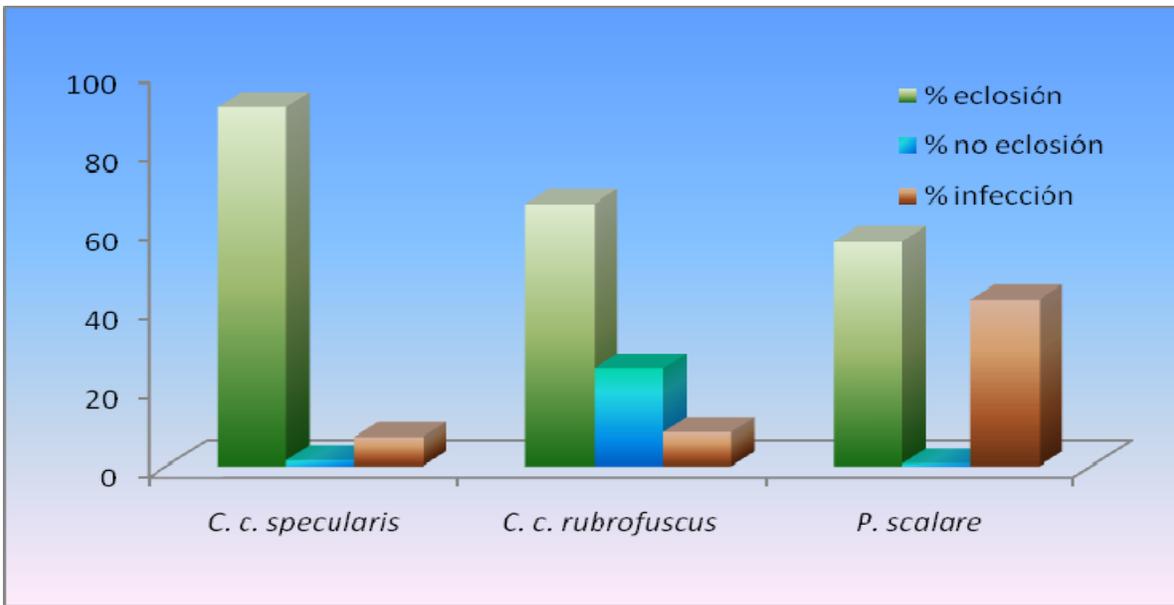
**Los resultados del sistema con formalina en la figura 19, siguen mostrando un alto porcentaje en huevos eclosionados tanto para *C. c. specularis* como para *C. c. rubrofuscus*, en cambio para *P. scalare* se reportarán los valores más bajos en porcentajes de eclosión en los tres tratamientos y los valores más altos en porcentaje de huevos no eclosionados, en contraste, para las tres especies no se observó infección.**



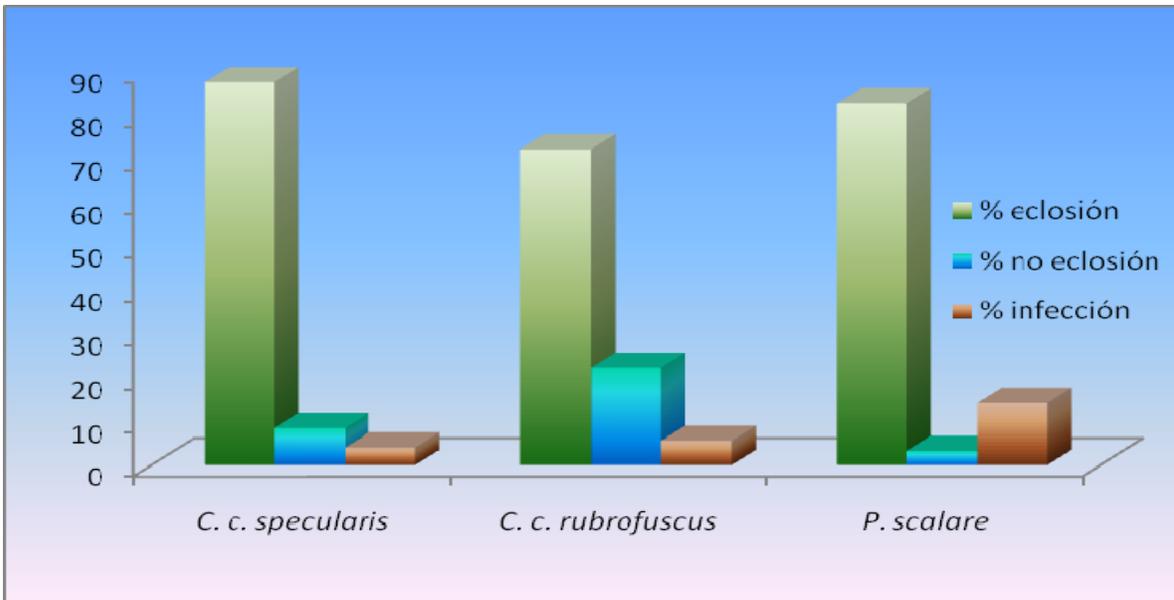
**Fig. 19.- Resultados del sistema de formalina en *C. c. specularis*, *C.c. rubrofuscus* y *P. scalare*.**

Por otro lado, El sistema profiláctico de luz UV (Fig. 20) reportó los valores más altos de eclosión para *C. c. specularis* comparativamente con los otros tratamientos, de hecho el comportamiento en los datos en este sistema, es similar al de sistema control pero con porcentajes en la infección menores.

El sistema profiláctico de ozono (Fig. 21), es el que mejores resultados presentó, ya que se observaron en las tres especies valores altos en la eclosión así como valores bajos tanto en huevos no eclosionados como en los porcentajes de infección.



**Fig. 20.- Resultados del sistema profiláctico con luz UV para *C. c. specularis*, *C.c. rubrofuscus* y *P. scalare*.**



**Fig. 21.- Resultados del sistema profiláctico con ozono en *C. c. specularis*, *C.c. rubrofuscus* y *P. scalare*.**

## VI DISCUSIÓN

El grupo control que muestra las condiciones naturales bajo las cuales se desarrollan las especies, muestra claramente que a pesar de obtenerse valores altos en la eclosión, sobre todo para las dos especies de carpas (Fig. 18), se registró también valores de infección, que si bien fueron bajos para las carpas, no lo fue para el pez ángel, quien presentó los valores más altos de infección, este porcentaje alto en el pez ángel es probable que se deba al tipo de huevo que presenta esta especie, ya que al ser adherente y aglutinarse en áreas pequeñas (Fig. 6), está más propenso al ataque por hongos y bacterias (Marking et al., 1994).

En el caso de los sistemas profilácticos utilizando formalina, en las tres especies no hubo infección (Fig. 19), ya que este agente es un poderoso fungicida (Marking et al. 1994; Scheier et al. 1995; Rach et al. 1997; Gardner et al. 1997; Carral et al. 2004; Celada et al. 2006; Gieseke et al. 2006; Rasowo et al. 2007), pero su acción demostró que la concentración utilizada fue perjudicial para los huevos de las especies utilizadas, ya que el porcentaje de huevos no eclosionados es alto y en algunos casos los alevines que eclosionaron se observaron con malformaciones o morían unos minutos después. De las tres especies, el pez ángel mostró los valores más bajos de eclosión de huevos (Fig. 19), lo que no sucedió con las carpas espejo y barrigon. Estos resultados difieren a los reportados por Scheier et al.

(1996), quienes con dosis de  $1500\mu\text{L}/\text{Lmin}^{-1}$  de formalina, aplicados diariamente por 15 minutos, incrementaban el porcentaje de eclosión (89.6%) para huevos de la trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*). Por otro lado, Marking *et al.* (1994), también reportaron que con dosis de 250 a  $1500\mu\text{L}/\text{Lmin}^{-1}$  de formalina previenen infecciones micóticas e incrementan en un 90% la eclosión de huevos de trucha arcoíris; de igual forma, Rach *et al.* (1997), reportaron en huevos de *C. carpio* una eclosión de 64% con dosis de  $1500\mu\text{L}/\text{L}^{-1}$ , sin embargo en términos prácticos la eclosión en los huevos de carpa es aceptable no así para el pez ángel. Sin embargo, para estas dos especies de carpas, dado su tipo de reproducción en estado natural, no serían susceptibles al uso de agentes profilácticos externos, pero bien podrían aplicarse bajo condiciones controladas como ocurre en algunos centros acuícolas donde se lleva a cabo la reproducción artificial y el control de la fertilización.

En general, el tratamiento a base de formalina no favorece el desarrollo normal del huevo, aunque si disminuyó de manera significativa la infección de microorganismos patógenos. En este sentido, Pérez-Cruz *et al.* (2002), reportaron que el pez ángel, sufre una mortandad muy alta, si no se tienen las condiciones favorables, ya que son muy susceptibles a los cambios externos tanto físicos, como químicos, por lo que habría que trabajar más en los sistemas profilácticos para aumentar su producción.

Por otro lado, Forneris *et al.* (2003) y Rasowo *et al.* (2007) recomiendan el uso de otros agentes profilácticos para sustituir a la formalina, ya que sus efectos varían de acuerdo a la especie y al estado de desarrollo de los huevos además de sus efectos al medio ambiente, ya que este agente tiene un alto precio, no es fácil de almacenar y tiene propiedades cancerígenas.

En el caso de la luz ultravioleta (Fig. 20), los porcentajes de eclosión son altos comparados con el sistema control, pero, con relación a los porcentajes de infección aún son altos en el pez ángel,

La capacidad de la radiación ultravioleta para la destrucción de microorganismos es bien conocida. Posee la propiedad de afectar, entre otras estructuras, el material genético de los microorganismos lo que impide la multiplicación y la viabilidad de sus células (Hektoen *et al.*, 1995). De modo general, puede decirse que afecta tanto a las bacterias como a sus esporas, así como a los virus. La radiación UV pese a ello ha estado limitada hasta hace poco tiempo.

En los estudios hechos por Hektoen *et al.* (1995), reportaron una inactivación de bacterias y virus patógenos en peces de agua salada en un 99.99% con una dosis de que va de los 2.7 mW/cm<sup>2</sup> a los 122 mW/cm<sup>2</sup>, pero también reportan que la capacidad germicida de la luz UV se ve afectada debido a partículas orgánicas e inorgánicas, como son partículas de alimento y heces. En el caso del presente trabajo, el uso de

filtros mecánicos coadyuvó a la limpieza del agua por lo que este no fue un factor que influyera en la aplicación de esta metodología. Summerfelt *et al.* (2005), reportaron inactivación de bacterias heterotróficas utilizando una dosis superior a la utilizada en el presente trabajo ya que utilizaron un dosis de  $1800 \text{ mW/cm}^2$  en un sistema de recirculación con un flujo de agua de 4750 L/min. En este sentido y considerando la dosis utilizada en el presente trabajo, es recomendable aumentarla y ver su viabilidad de uso para los huevos del pez ángel.

Para sistemas con un mínimo de cantidades de materiales suspendidos y disueltos en el agua, los sistemas de luz UV es un método de desinfección barato y eficiente, la principal ventaja que tiene es que la propiedades físicas y químicas del agua no son afectadas y la sobredosis no producen efectos (Landau, 1992). Sin embargo los porcentajes de infección en este sistema profiláctico siguen siendo importantes para el pez ángel.

En el presente trabajo, al parecer el uso de ozono como agente profiláctico fue el que mejor resultados arrojó (Fig.21), ya que los niveles de eclosión fueron de los más altos en comparación con el sistema control (Fig. 18), formalina (Fig. 19) y luz UV (Fig. 20). Así mismo, disminuyeron los porcentajes de huevos no eclosionados y los porcentajes de infección.

La eficiencia del ozono como desinfectante ha sido estudiada en varias especies, no solo de huevos de peces (Sellars y Morehead, 2005; Liltved *et al.*, 2006). Bullock *et al.*, (1997), reportaron una reducción de bacterias heterotróficas y bacterias de las branquias que afectan a la trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) utilizando una dosis de 0.025 a 0.39 kg de ozono /kg<sup>-1</sup> de alimento y con esto reducción de la mortalidad de la trucha arcoíris, en sistemas de recirculación. El ozono es un poderoso oxidante y es popular en varios sistemas de la acuicultura para la desinfección y mejoramiento de la calidad de agua por la oxidación de los componentes orgánicos e inorgánicos (Gagnon y Tango, 2003). Al respecto, se han estudiado alternativas que sustituyan el uso de agentes profilácticos como la formalina, en la prevención de saprolegniasis, por lo que Forneris *et al.*, (2003), recomiendan la utilización de ozono como agente profiláctico en la cría de trucha arcoíris, los resultados de eclosión que ellos reportaron fue del 42.6% a 49.1% con dosis de ozono de 0.01 a 0.02 ppm, eclosión muy baja comparada con los resultados del presente trabajo.

La ozonación y la luz UV son dos tecnologías que han sido usadas para tratar grandes flujos de agua en la acuicultura, incluyendo flujos dentro de sistemas de recirculación de agua dulce. Los estudios más recientes hechos con ozono y luz UV, combinan estos dos agentes profilácticos con buenos resultados, tal es el caso del trabajo de Summerfelt y Sharrer (2007), donde la combinación de ozono en dosis de 0.1-0.2 min mg/L con luz UV en dosis de 50 mJ/cm<sup>2</sup>, reducen

consistentemente la cantidad de bacterias heterotróficas hasta niveles de cero. En estudios hechos por Liltved *et al.* (2006) y Summerfelt *et al.* (2007), demostraron una inactivación del 99.99% de bacterias y de virus utilizando una dosis de 7.7mJ/cm<sup>2</sup> y 50mJ/cm<sup>2</sup>, respectivamente; los dos estudios recomiendan combinar el uso de luz UV con ozono para que reducir eficientemente la bacterias y virus de los sistemas de recirculación, lo cual podría ser una alternativa en el caso de los huevos del pez ángel el cual como se sabe es de amplia producción en granjas de peces de ornato (Zilberg *et al.*2004; Luna-Figueroa y Gómez, 2005; Zilberg *et al.* 2009)

Con los resultados de este trabajo, para el caso de las especies de carpa el uso de estos agentes profilácticos (UV y ozono) podrían ser una alternativa en los centros de producción acuícola, que son los encargados de producir estas especies para el consumo humano, ya que con los resultado de una alta eclosión y porcentajes bajos de infección, la producción de peces se vería favorecida incrementando la eficiencia de los criaderos y la sustentabilidad económica de éstos. El uso de sistemas profilácticos como la luz UV y el ozono en la acuariofilia, esta incrementándose debido a su fácil instalación, mantenimiento y a que su costo ha ido bajando en estos últimos años. Los criaderos de peces ornamentales tienen, en los sistemas profilácticos de luz UV y ozono, la opción para incrementar sus ventas y reducir sus pérdidas por altos porcentajes de infección, situación común en la cría de pez

**ángel. En posteriores trabajos se recomienda la combinación de sistemas de luz UV y ozono, para mejorar la calidad del agua y evitar infecciones de patógenos en los huevos de peces tanto de consumo, como ornamental.**

## VII. CONCLUSIONES.

❖ Los sistemas profilácticos probados en el Laboratorio de Ecología de Peces, son recomendables en sistemas de recirculación y pueden ser modificados de acuerdo a la especie y tipo de huevo que se tenga.

❖ En el caso de carpa espejo (*C. carpio specularis*), el mayor porcentaje de eclosión y bajo porcentaje de huevos no eclosionados se logró con el sistema de luz UV y una baja infección con el sistema de ozono.

❖ Para los huevos de carpa barrigona (*C. carpio rubrofuscus*) tanto el sistema de UV como de ozono son recomendables, ambos presentan valores altos en la eclosión por arriba del 70 % y bajos en la infección por abajo del 10 %.

❖ Para los huevos de pez ángel (*P. scalare*) el sistema profiláctico más eficiente fue ozono dando valores bajos de infección y una mayor eclosión.

❖ La adición de formalina en el sistema profiláctico demostró ser eficaz hasta en un 100% sin infección. Sin embargo, la concentración utilizada interfirió en el desarrollo normal de los huevos por lo que, la concentración utilizada de formalina  $1500\mu\text{L}^{-1}$  durante 15 minutos no es recomendable para los huevos de estas especies.

❖ La luz ultravioleta en dosis de  $8\text{mW/cm}^2$ , disminuye el riesgo de infección, pero deben de tomarse en cuenta los factores que pueden reducir la eficiencia profiláctica, como por ejemplo la turbidez del agua.

❖ Los sistemas de luz UV y ozono no interfirieron en el desarrollo embrionario de las especies *P. scalare*, *C. carpio specularis* y *C. carpio rubrofuscus*, por lo que pueden utilizarse sin ningún riesgo y podrían ser combinables.

## VIII. REFERENCIAS.

- ❖ Brooks, G.B. 1994. A simplified method for the controlled production and artificial incubation of *Oreochromis* eggs and fry. *The progressive Fish-Culturist* 56:58-59.
- ❖ Buchan, K. A.H., Robichaud, D. J., and Benfey, T.J. 2005. Measurement of dissolved ozone In sea water: A comparison of methods. *Aquacultural Engineering* 33: 225-231.
- ❖ Bullock, L. G., S., T. Summerfelt, A.C. Noble, A.L. Webe, M.D. Durant and J.A. Hankins, 1997. Ozonation of recirculating rainbow trout culture system. I. Effects on bacterial gill disease and heterotrophic bacteria. *Aquaculture* 158: 43-55.
- ❖ Burrows, R. E. 1949. Prophylactic treatment for control of fungus (*Saprolegnia parasitica*) on salmon eggs. *The Progressive Fish-Culturist*, 11:97-103.
- ❖ Carral, J.M., Celada, J.D., Gonzalez, J., Gaudioso, V.R., Fernández, R. and López-Baissón, C. 1992. Artificial incubation of crayfish eggs (*Pacifastacus leniusculus Dana*) from early stages of embryonic development. *Aquaculture*, 104: 261-269.
- ❖ Carral, J. M., Celada, J. D., Royuela, M. S., Melendre, P.M., and Aguilera, A. 2004. Effects of different antifungal treatments on artificial incubation of the astacid crayfish (*Pacifastacus leniusculus Dana*) eggs. *Aquaculture* 239: 249-259.
- ❖ Celada, J.D., Melendre, P.M., Carral, J.M., Royuela, M.S., and Aguilera, A. 2006. Effectiveness of antifungal

- treatments during artificial incubation of the signal crayfish eggs (*Pacifastacus leniusculus* Dana. Astacidae). *Aquaculture*, 257: 257-265.
- ❖ Cline, T.F. and G.Post, 1972. Therapy for trout eggs infected with *Saprolegnia*. *Progressive Fish-Culturist* 34: 148-151.
  - ❖ Drummond, S.S. 1988. Cría de la trucha. Zaragoza, España. 125 p.
  - ❖ Forneris G., Bellardi S., Palmegiano G.B., Saroglia M., Sicuro B., Gasco,L., Zoccarato, I. 2003. The use of ozono in trout hatchery to reduce saprolegniasis incidence. *Aquaculture* 221: 157-166.
  - ❖ Gagnon, G. A., and Tango M. S. 2003. Impact of ozonation on water quality in marine recirculation systems. *Aquacultural Engineering* 29: 125-127.
  - ❖ Gardner, C., and Northam, M. 1997. Use of prophylactic treatments for larval rearing of giant crabs *Pseudocarcinus gigas* (Lamarck). *Aquaculture* 158: 203-214.
  - ❖ Giesecker, C.M., Serfling, S.G., and Reimschuessel, R. 2006. Formalin treatment to reduce mortality associated with *Saprolegnia parasitica* in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture*, 253: 120-129.
  - ❖ Hektoen, H., Liltved, H., and Efraimsen, H. 1995. Inactivation of bacterial and viral fish pathogens by ozonation or UV irradiation in water of different salinity. *Aquacultural Engineering* 14: 107-122.
  - ❖ Landau, M. 1992. Introduction to *aquaculture*. Hamilton Printing Company. United States of America. 440 p.

- ❖ Liltved, H., Vogelsang, C., Modahl, I., and Dannevig, B.H. 2006. High resistance of fish pathogenic viruses to UV irradiation and ozonated seawater. *Aquacultural Engineering* 34: 72-82.
- ❖ Loopas, L. 1995. Ozone injection for bottled water. *Water Technology* 18: 32-33.
- ❖ Luna-Figueroa, J. Gómez, P. E. 2005. Incorporación de *Culex quinquefasciatus* y *Daphnia* sp. en la dieta y su influencia en la reproducción de *Pterophyllum scalare* (Pisces:Ciclidae). *Revista Naturaleza y Desarrollo*. Vol. 3 No. 1. 5-10.
- ❖ Marking, L.L., Rach, J.J., Schreier, T.M. 1994. Evaluation of antifungal agents for fish culture. *The Progressive Fish-Culturist* 56:225-231.
- ❖ McAllister, P.E., and Wilson, G.A. 1988. Treatment of fish eggs by injection of chemicals into the incubator water supply. *The Progressive Fish-Culturist* 50:116-117.
- ❖ Nathanson, R. 1996. Ozono works swimmingly in pools. *Water Technology* 15:25-26.
- ❖ Ng, W.J., Kho, Ho, L.M., Ong, S.L., Sim, T.S., Tay, S.H., Goh, C.C. and Cheong, L. 1992. Water quality within a recirculating system for tropical ornamental fish culture. *Aquaculture*, 103: 123-134.
- ❖ Pérez-Cruz, M. E., Morales, S. I. y Olvera, Q. H. 2002. Frecuencia de desove de diferentes variedades del Pez Angel *Pterophyllum scalare* (Pisces: Cichlidae). *Revista AquaTIC*, nº16, Abril 2002. [Consultado el 14/05/2011 en URL: <http://www.revistaaquatic.com/aquatic/art.asp?t=h&c=144>]

- ❖ Piper, R, G., I. B. McElwain, L. E. Orme, J. P. McCraren, L. G. Fowler and J.R. Leonard. 1982. Fish hatchery management. U. S. Fish and Wildlife Service, Washington, DC. 517 pp.
- ❖ Rach, J. J., Howe, G. E., and Scherier T. M., 1997. Safety of formalin treatments on warm and coolwater fish eggs. *Aquaculture* 149:183-191.
- ❖ Rasowo, J., Okoth, O.E., and Ngugi, C.C. 2007. Effects of formaldehyde, sodium chloride, potassium permanganate and hydrogen peroxide on hatch rate of African catfish *Clarias gariepinus* eggs. *Aquaculture* 269: 271-277.
- ❖ Rich, T. and Vervalle, P. 1995<sup>a</sup>. Commanding ozono's attack. Planning for its use opens up a wide range of applications. *Water Technology* 18: 89-92.
- ❖ Rich, T. and Vervalle, P. 1995<sup>b</sup>. Where ozono is an advantage. *Water Technology* 18: 59-60.
- ❖ Scheier, T., Rach, J. J., and Howe, G. E. 1996. Efficacy of formalin, hydrogen peroxide, and sodium chloride on fungal-infected rainbow trout eggs. *Aquaculture*, 140: 323-331.
- ❖ Sellars, M. J., Coman, G. J., and Morehead, D. T. 2005. Tolerance of *Penaeus (Marsupenaeus) japonicas* embryos to ozono disinfection. *Aquaculture* 245: 111-119.
- ❖ Summerfelt, S.T., Sharrer, M. J., Bullock, G. L., Gleason, L. E., and Taeuber J. 2005. Inactivation of bacteria using ultraviolet irradiation in a recirculating salmonid culture system. *Aquacultural Engineering* 33: 135-149.

- ❖ **Summerfelt, S.T., and Sharrer, M. J. 2007. Ozonation followed by ultraviolet irradiation provides effective bacteria inactivation in a freshwater recirculating system. *Aquacultural Engineering* 37: 180-191.**
- ❖ **Zilberg, D., Ofir, R., Rabinski, T., and Diamant, A. 2004. Morphological and genetic characterization of swimbladder non-inflation in angelfish *Pterophyllum scalare* (Cichlidae). *Aquaculture* 230: 13-27.**
- ❖ **Zilberg, D., Sanabria, C., and Diamant, A. 2009. Effects of commonly used disinfectants and temperature on swim bladder non-inflation in freshwater angelfish, *Pterophyllum scalare* (Lichtenstein). *Aquaculture* 292:158-165.**