1062-AMIWR2019

کارائی ازن در بهبود کیفیت آب در سازگان پرورش متراکم ماهی قزل آلای رنگین کمان

محمد باباپور[۱]، غلامرضا رفیعی[۲*]

۱. دانشجوی دکتری شیلات، گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران،کرج، ایران
۲. استاد گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تهران،کرج، ایران(نویسنده مسئول)

چکیده:

پرورش متراکم آبزیان منجر به کاهش کیفیت آب محیط های پرورشی می شود، که با ایجاد شرایط استرس‌زا میتواند آبزیان پرورشی را مستعد بیماری کند. در این راستا سیستمهای مختلفی برای پرورش متراکم آبزیان ایجاد شده است. ازن به عنوان اکسید کننده قوی می‌تواند با حذف بخشی از مواد جامد معلق، کاهش غلظت فسفر، تبدیل آمونیاک و نیتریت به نیترات و کاهش کدورت موجب بهبود کیفیت آب در سازگان‌های پرورشی با تراکم بالا شود و به این ترتیب باعث بهبود شاخص های رشد گردد. این پژوهش در چهار سطح ازن (۱۰۰ mV-۱۲۰،۲۵۰-۳۰۰،۴۵۰-۵۰۰،۵۵۰-۶۰۰تیمار بدون ازن) با نرخ تعویض آب ۶ درصد حجم کل، در ۳ تکرار اجرا گردید. در هر واحد آزمایشی تعداد ۲۰ قطعه بچه ماهی ۲±۱۷/۲ گرمی به طور تصادفی توزیع شد. فاکتورهای کیفی آب و شاخص های رشد ماهیان اندازه گیری شد. تزریق ازن به ترتیب موجب افزایش و کاهش نیترات و نیتریت شد($p < ۰/۰۱$). اما ازن در هیچکدام از تیمارها بر میزان آمونیاک کل و فسفر کل تاثیر معنی داری نداشت($p > ۰/۰۵$). همچنین ضریب تبدیل غذایی (FCR) با افزایش سطح ازن کاهش یافت($p < ۰/۰۵$). با افزایش سطح ازن، شاخص وضعیت و نرخ رشد ویژه به طور معنی داری افزایش پیدا کرد($p < ۰/۰۵$). در کل، نتایج حاکی از بهبود شاخص‌های کیفی آب پرورشی می‌باشد، که موجب کاهش ضریب تبدیل غذایی و بهبود شاخص وضعیت (CF) و نرخ رشد ویژه (SGR) شده است. با توجه به نتایج بدست آمده و نتایج پژوهش های گذشته، می توان سازگان‌های پرورشی با متراکم بالا را با ریسک دوره پرورش کمتر طراحی کرد.

واژه‌های کلیدی:پرورش متراکم، قزل آلای رنگین کمان، کیفیت آب، ازن، شاخص های رشد.

مقدمه

استفاده از آب برگشتی به عنوان یکی از بهترین روش‌های پرورش متراکم آبزیان و استفاده حداکثری از آب مطرح است (Badiola *et al.*, 2012). این در حالی است که افزایش تراکم آبزیان با کاهش کیفیت آب پرورشی همراه است(Rafatnezhad *et al.*, 2008). این مسئله هنگامی برجسته‌تر است که به دلیل کمبود منابع آبی، آبزی‌پرور ناگزیر به استفاده از سیستم برگشتی آب با نرخ اندک باشد. در این راستا، نشان داده شده است که تیلاپیای بزرگ در سیستم با تعویض آب اندک تاخیر در رشد را نشان می دهد (Martins *et al.*, 2009a) و تعویض اندک آب موجب تجمع ارتوفسفات-P، نیترات و فلزات سنگین در لارو کپور معمولی شده (Martins *et al.*, 2009b). همچنین، افزایش TSS، مقدار مس محلول و مواد ذره‌ای ریز به دنبال کاهش نسبت آب تازه به آب برگشتی با بدشکلی اسکلتی در آزاد ماهیان همراه بوده است (Davidson *et al.*, 2009)؛ همچنین در مداکای ژاپنی

نیز مشخص شد تجمع نیترات بیش از ۱۰۰ mg/L موجب بدشکلی اسکلتی می شود(Shimura *et al*. 2004). لذا واضح است که با افزایش تراکم پرورشی، کیفیت آب و شرایط پرورشی کاهش می‌یابد، لذا به‌کارگیری راهکارهای پیشرفته مهندسی آبزیان از قبیل استفاده از انواع فیلترها، راهکارهای تامین اکسیژن، دستگاه های ازن ژنراتور و فوم فرکشنرها برای جبران این مسائل امری ضروری است. در این میان، استفاده از ازن به عنوان اکسید کننده و ضدعفونی کننده قوی در سال‌های اخیر مورد توجه بوده است؛ اما متاسفانه در ایران تحقیقات کمی روی این موضوع انجام شده است.

ازن با نماد O3 گازی بی رنگ است که می‌تواند موجب تبدیل آمونیاک و نیتریت به نیترات (Gongalves and Gagnon. 2011)، حذف کربن آلی و کاهش BOD و COD، کاهش کدورت آب و مولکول‌های غیر قابل تجزیه (Summerfelt *et al*., 2003)، و کاهش اثرات تجمعی پتاسیم در سیستم های با تراکم بالا شود (Davidson *et al*., 2011). اما حضور ازن بیش از اندازه در محیط پرورشی، موجب صدمه های از قبیل بروز استرس اکسیداتیو، افت فاکتورهای هماتولوژیک، آسیب به گلبولهای قرمز، صدمه به اپیتلیال لاملاهای آبششی، تشکیل سلولهای گرانوله ائوزینوفیل در اپیتلیال آبشش، افزایش کورتیزول، افزایش سطح سدیم و کلراید خون، عدم تعادل اسمولالیته سرم، کاهش رشد و نهایتاً مرگ ماهیان می شود (Xian *et al*., 2015; Ritola *et al*., 2000; Summerfelt, 2003; Wedemeyer *et al*., 1979; Chen *et al*., 2003; ;Fukunaga *et al*., 1992; Reiser, 2011;). لذا ورود کنترل نشده ازن به سیستم های پرورشی می تواند موجب صدمه فیزیولوژیک به آبزی پرورشی شود. بنابراین، استفاده دقیق و کنترل شده آن بسیار ضروری می باشد. تزریق ازن در آب پرورش ماهی به سه روش تزریق پیوسته، روش توده‌ای و روش دوره‌ای انجام می‌شود. تزریق پیوسته به صورت دائمی است، در حالی‌که تزریق توده‌ای همان روش پیوسته، اما در کمتر از ۲۴ ساعت است. روش تزریق دوره‌ای در دوره‌های زمانی خاصی از روز انجام می‌گیرد (Brazil *et al*., 2011). از آنجایی که میزان آمونیاک (Easter *et al*., 1992) و مواد آلی محلول (Herbst *et al*., 1994) در ۳ الی ۴ ساعت بعد از غذادهی به اوج می‌رسند، لازم است که تزریق سریالی ازن متناسب با دوره‌های غذادهی باشد. روش تزریق سریالی نوسان کیفی کمتری نسبت به روش توده‌ای ایجاد می کند، اما بهترین ثبات کیفیت آب در روش پیوسته رخ می‌دهد که با تزریق پیوسته ازن گران قیمت و خطرات پیوسته ورود بقایای ازن به بخش پرورشی و تماس مداوم با ماهی همراه است (Brazil *et al*., 1996). تزریق سریالی، از طرف دیگر، هزینه‌های اجرایی کمتری داشته و اثرات تخریبی ناچیزی بر موجود پرورشی خواهد داشت. اگرچه لازم است که غلظت بهینه ازن و دوره‌های زمانی تزریق در سیستم‌های پرورشی با زمان ماند هیدرولیکی بالا مشخص گردد. لذا در این پژوهش، ازن در چهار سطح پتانسیل اکسیداسیون-احیا (ORP) با روش تزریق سریالی برای پرورش بچه ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان استفاده گردید. کیفیت آب پرورشی و همچنین عملکرد رشد ماهیان در این مطالعه اندازه‌گیری شد. نتایج این مطالعه می‌تواند به عنوان الگوی پرورش صنعتی این ماهی به کار گرفته شود.

مواد و روش ها

تعداد ۶۰۰ قطعه بچه ماهی رقم بندی شده از ماهی سرای کرج از نژاد دانمارکی خریداری شده و به آزمایشگاه منتقل شد. ماهی‌ها در مخازن ۱۰۰۰ لیتری توزیع شدند. دوره سازگاری دو هفته بود که در این مدت میزان غذادهی روزانه طبق جدول کولنز و همکاران(۱۹۹۹) با غذای FFT-2 شرکت فرادانه (قطر ۴ میلیمتر) در سه نوبت در روز صورت گرفت. در طی دوره سازگاری، دمای آب،EC، TDS، pH، اکسیژن محلول و ORP روزانه یک مرتبه در ساعت ۱۲ ظهر اندازه‌گیری شد. مقادیر متوسط این پارامترها به ترتیب ۱۴ ºC، ۴۴۰µS/cm ، ۲۲۰ mg/L، ۸/۱ mg/L و ۱۲۰ mV بود. در پایان دوره سازگاری، ماهیان قطع غذا شده و زیست سنجی بچه ماهیان با استفاده از ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۱ گرم و طول ماهی با خط کش با دقت ۰/۱ سانتی‌متر انجام شد. این آزمایش براساس تزریق سریالی در چهار سطح مختلف ازن mV ۱۰۰-۱۲۰،۲۵۰-۳۰۰،۴۵۰-۵۰۰،۵۵۰-۶۰۰تیمار بدون ازن تیمار بدون ازن، سه مرتبه در روز در ۳ ساعت بعد از هر غذادهی به مدت یک ساعت با نرخ تعویض آب ۶ درصد حجم کل در ۳ تکرار انجام شد. در هر واحد آزمایشی، تعداد ۲۰ قطعه بچه ماهی ۲±۱۷ گرمی به طور

تصادفی در مخازن ۱۰۰ لیتری توزیع شده و مدت ۴۰ روز پرورش داده شدند. متوسط تراکم نگهداری ماهی از شروع تا پایان از ۳/۸۲ kg/m تا ۹/۱۱ kg/m و نرخ بقا به طور متوسط ۹۸ ٪ بود. در طی دوره پرورش فاکتورهای اصلی کیفیت آب هر روز نمونه برداری گردید.

دمای آب،EC، TDS، pH، با استفاده از سنسور hi9811-5 شرکت هانا ساخت کشور رومانی و ORP با استفاده از سنسور ۸۶۵۱ شرکت AZ ساخت کشور تایوان اندازه گیری شد. آنالیز نمونه های آب در ابتدای شروع آزمایش و در وسط آزمایش و در آخر دوره آزمایش انجام شد به این ترتیب که جهت سهولت کار نمونه برداری از آب انجام و تا اتمام آزمایش در فریزر ۱۸- درجه سانتی گراد نگهداری و همگی یکجا سنجش شد. همچنین، غلظت‌های فسفات، آمونیاک، نیتریت در نمونه‌ها به ترتیب با روش-های سوگوارا، هیپوکلرایت و برن اشنایدر(Eaton *et al.*, 2005) به روش رنگ سنجی (با استفاده از دستگاه‌های اسپکتروفتومتر HITACHIU-2000 ژاپنی و اسپکتروفتومتر CECEIL مدل ۱۰۲۰ CE انگلیسی) تعیین گردید. در وسط و آخر دوره همراه با بیومتری فاکتورهای تکمیلی کیفی آب نیز اندازه گیری شد. در طی دوره آزمایش از آب هوادهی شده چاه برای تعویض آب و جبران تبخیر استفاده شد. عملکرد رشد در انتهای دوره پرورشی انجام گرفت. برای بررسی تاثیر تیمارها، نرخ رشد ویژه، ضریب تبدیل غذایی (Hevroy *et al.*, 2005) و فاکتور وضعیت (Ai *et al.*, 2006) بررسی شد.

۱۰۰× [طول دوره آزمایش / (لگاریتم طبیعی وزن اولیه ماهی - لگاریتم طبیعی وزن نهایی ماهی)] = نرخ رشد ویژه

۱۰۰× ۳(طول کل ماهی بر حسب سانتی متر) / وزن ماهی بر حسب گرم = فاکتور وضعیت

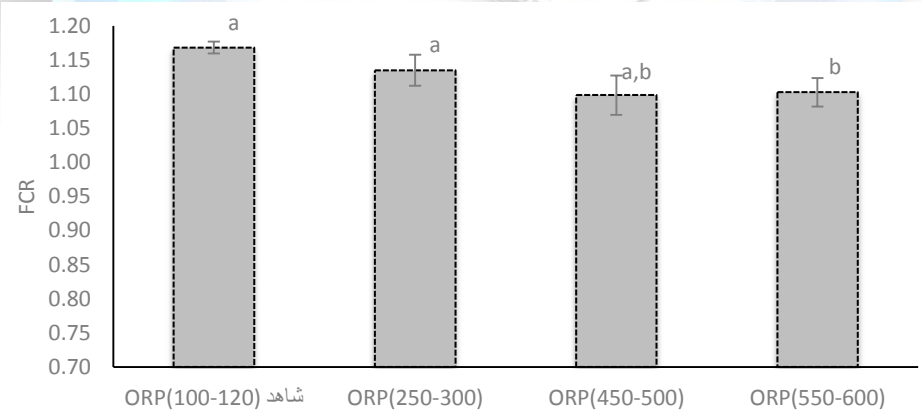
وزن بدست آمده ماهی (گرم) / غذای خورده شده (گرم) = ضریب تبدیل غذایی

بررسی نرمال بودن داده با آزمون Shapiro-Wilk انجام شد. تمامی داده ها توزیع نرمال داشتند. به منظور تجزیه و تحلیل داده-ها از آنالیز واریانس یک طرفه (one-way ANOVA) و برای تعیین وجود یا عدم وجود اختلاف معنی دار بین میانگین‌ها از آزمون دانکن و نرم افزار SPSS استفاده شد. سطح معنی دار ۰/۰۵ در نظر گرفته شد و اثرات مستقل و متقابل غلظت ازن و نرخ تعویض آب به طور جداگانه بررسی شد.

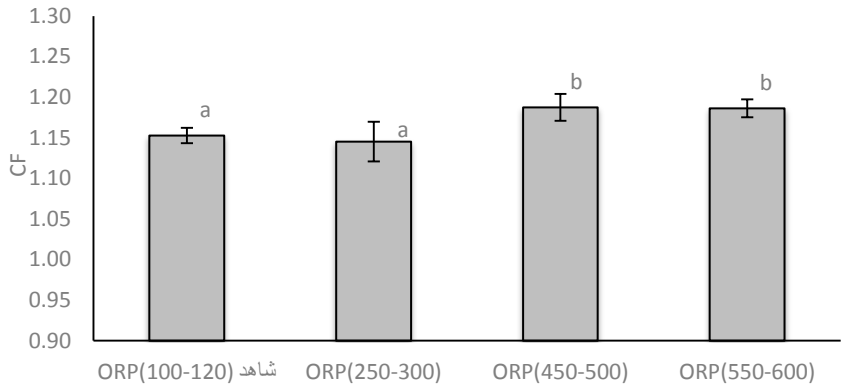
نتایج و بحث

نمودار ۱ بیانگر تغییرات ضریب تبدیل غذایی است. در خصوص ضریب تبدیل غذایی، نتایج حاکی از تاثیر معنادار غلظت ازن بر ضریب تبدیل غذایی بود (P< ۰/۰۵)؛ و با افزایش سطح ازن از مقدار آن کاسته شده است(نمودار ۱).

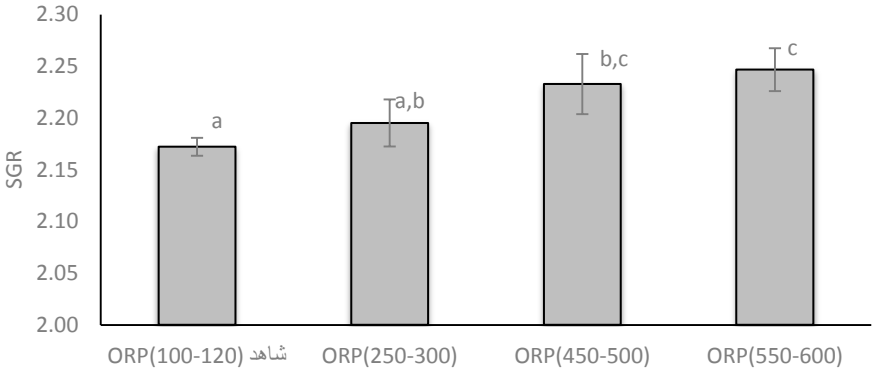
نتایج آنالیز نشان داد که ازن بر شاخص وضعیت تاثیری معنی دار داشته(P<۰/۰۵)؛ با افزای سطح ازن بر مقدار آن افزوده شده است(نمودار ۲).همچنین در مورد نرخ رشد ویژه نیز ازن تاثیر معنی داری داشت(P< ۰/۰۵)؛ با بالا رفتن سطح ازن، نرخ رشد ویژه نیز افزایش پیدا کرده بود(نمودار ۳).



نمودار ۱) اثر سطوح مختلف ازن (ORP) بر ضریب تبدیل غذایی



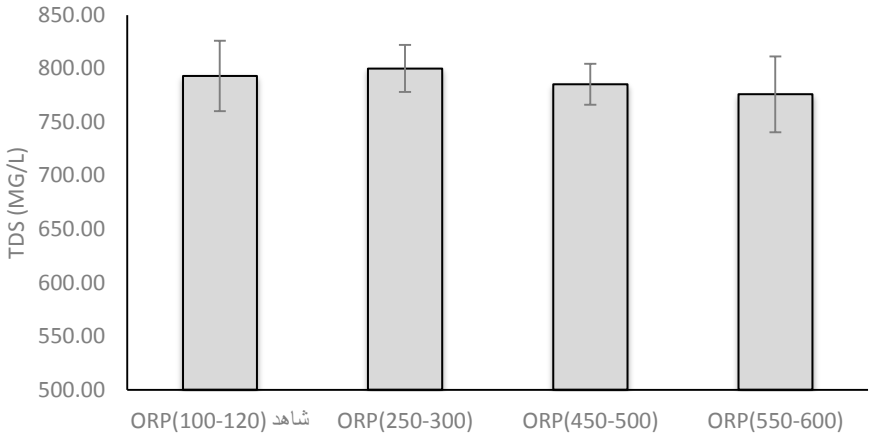
نمودار۲) اثر سطوح مختلف ازن(ORP) بر شاخص وضعیت



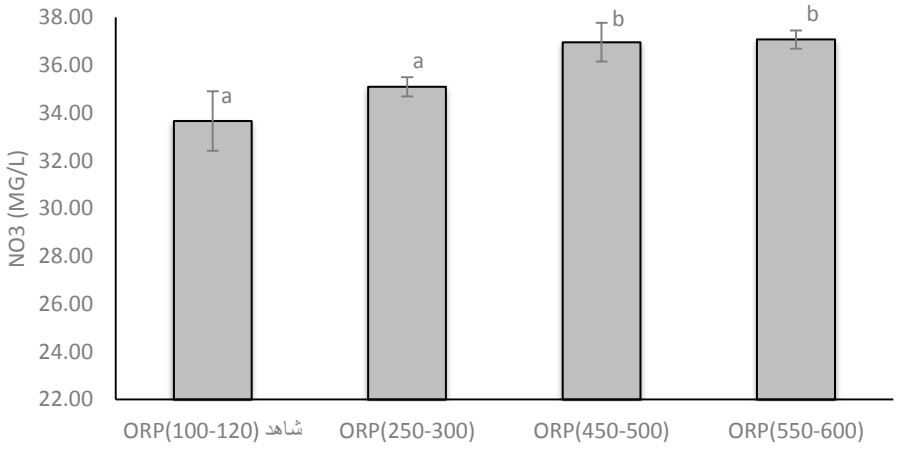
نمودار۳) اثر سطوح مختلف ازن(ORP) بر نرخ رشد ویژه

اثر غلظت های مختلف ازن بر فاکتورهای کیفیت آب نیز بررسی شد. غلظت ازن بر مواد محلول کل اثر معنی داری نبود(P>۰/۰۵)، روند تغییرات بارزی نیز در این فاکتور مشاهده نشد(نمودار ۴).

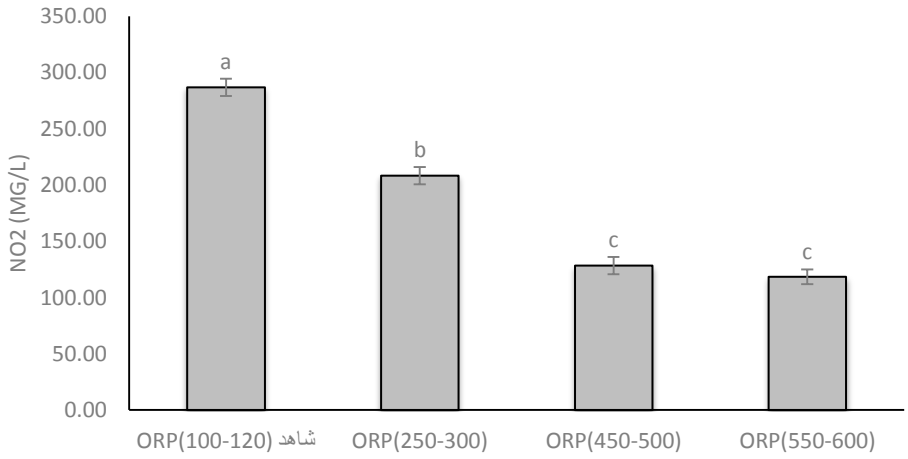
نتایج نشان داد که اثر سطوح مختلف ازن بر روی غلظت نیترات در سطح ۱ درصد (P< ۰/۰۱) معنی دار بود؛ و با افزایش ازن میزان نیترات نیز بخوبی افزایش یافت(نمودار۵)؛ به طوری که در بالاترین سطح ازن، ۱۰/۱۳ درصد افزایش غلظت نیترات نسبت به گروه کنترل مشاهده می شود.بررسی نتایج غلظت نیتریت متاثر از سطوح مختلف ازن، نشان داد که غلظت ازن در سطح ۱ درصد بر غلظت نیتریت تاثیر گذاشته است (P < ۰/۰۱)، به نحوی که با افزایش ازن، کاهش نیتریت مشهود است(نمودار ۶) و ۵۸/۷۲ درصد کاهش نیتریت در بالاترین سطح ازن نسبت به گروه کنترل رخ داده است.با بررسی نتایج غلظت آمونیاک کل، مشخص شد که سطوح مختلف ازن بر غلظت آمونیاک کل تاثیر معنی داری نداشته است(P > ۰/۰۵)؛ روندی خاصی نیز مشاهده نشد(نمودار ۷).نتایج نشان داد که اثر سطوح مختلف ازن بر غلظت فسفر کل د معنی دار نبوده است (P > ۰/۰۵)؛ (نمودار ۸).



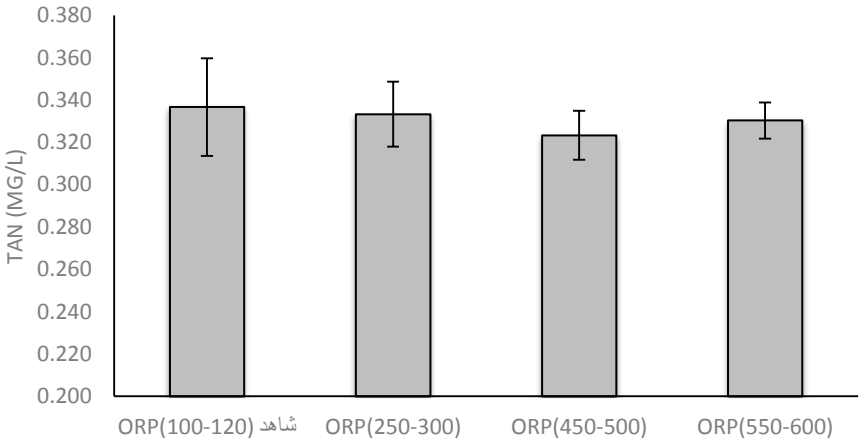
نمودار۴) اثر سطوح مختلف ازن(ORP) بر مواد محلول کل



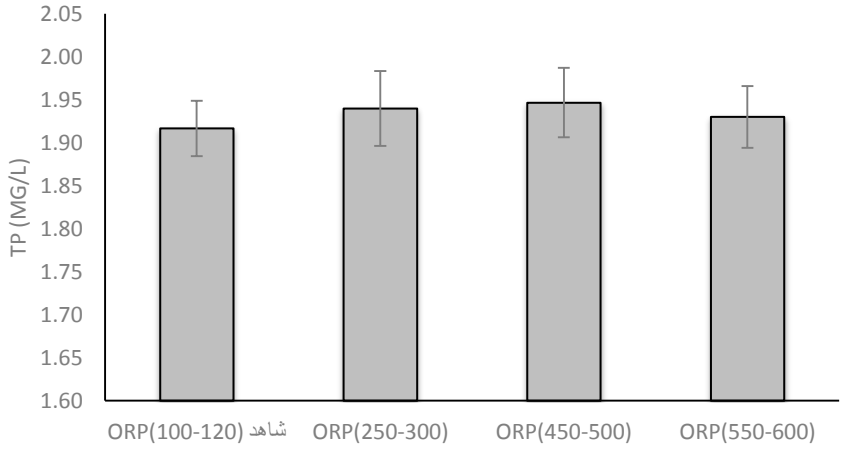
نمودار ۵) اثر سطوح مختلف ازن(ORP) بر غلظت نیترات



نمودار ۶) اثر سطوح مختلف ازن(ORP) بر غلظت نیتریت



نمودار ۷) اثر سطوح مختلف ازن(ORP) بر غلظت آمونیا



نمودار ۸) اثر سطوح مختلف ازن(ORP) بر غلظت فسفر کل

مطالعه حاضر به بررسی عملکرد ازن بر کیفیت آب در سازگان پرورش متراکم ماهی قزل آلای رنگین کمان پرداخت. نتایج این مطالعه نشان داد که با افزایش سطح ORP (غلظت ازن) ضریب تبدیل غذایی کاهش یافته و بهبود پیدا کرده است. این مساله در پژوهش های دیگر در مورد ماهی قزل آلای رنگین کمان (Davidson *et al.*, 2011) و ماهی سی باس اروپایی (Xian *et al.*, 2015) نیز رخ داده است. این مساله بخاطر توانایی مقابله بیشتر ماهیان با باکتری های محیطی و بروز عوامل هماتولوژیک متعادل‌تر نسبت به ماهیان سیستم بدون ازن می باشد (Xian *et al.*, 2015) ؛چرا که ماهی قزل آلای رنگین کمان نیز با تزریق ازن در سیستم، شرایط محیطی بهتری برای رشد ماهی در سیستم های RAS ایجاد شده و به این ترتیب ازن منجر به کاهش ضریب تبدیل غذایی شده است (Davidson *et al.*, 2011). در پژوهش حاضر نیز بهبود ضریب تبدیل با تزریق ازن را می توان ناشی از بهبود شاخص‌های کیفی آب پرورشی دانست، این مساله با افزایش نرخ تعویض آب و تاثیر متعادل کننده تعویض آب بیشتر در اثر متقابل خود را نشان می دهد. نتایج نشان داد که اثرات افزایش غلظت ازن موجب بهبود شاخص وضعیت شد که در پژوهشی بر ماهی قزل آلا در نهایت مشخص شد که ازن منجر به بهبود فاکتور وضعیت می شود (Davidson *et al.*, 2011) البته در پژوهشی بر ماهی دو رگ سی باس راه راه (*Morone saxatilis x chrysops*) نیز رشد ماهی در سیستم حاوی ازن بیشتر بود (Brazil *et al.*, 1996)؛ در پژوهشی دیگر بر ماهی آزاد اطلس، مشخص شد که استفاده از ازن در سیستم RAS

موجب افزایش رشد این ماهی شده است(Sutterlin *et al*., 1984). بالا بودن فاکتور وضعیت با افزایش ازن می تواند نشان دهنده عدم استرس فیزیولوژیک با منشا ازن سریالی باشد چرا که؛ فاکتور وضعیت یا سایر علایم کلینیکی می تواند دال بر وقوع استرس فیزیولوژیک باشد(Kebus *et al*., 1992). در خصوص نرخ رشد ویژه نیز نتایج این پژوهش با نتایج دیگر مشابه می باشد؛ علت این مساله در بهبود کیفیت محیط پرورشی بواسطه ازن زنی می باشد(Brazil *et al*., 1996).

با بررسی نتایج TDS مشخص شد که در این پژوهش در بالاترین سطح ازن، TDS به میزان فقط ۲ درصد کاهش یافته است اما این تاثیر معنی دار نبوده است، در حالی که در پژوهشی با ازن زنی در سیستم برگشت آب پرورش ماهی قزل آلا، TDS به مقدار ۳۳ درصد کاهش یافته بود (Samerfelt *et al*., 1997) که می توان به شرایط انجام آزمایش مربوط دانست که در سیستم تزریق پیوسته انجام شده بود. در تحلیل نتایج نیترات مشاهده می شود که با افزایش ازن، غلظت نیترات بالا رفته است، این حالت در پژوهش دیگری نیز مشاهده شده و ازن نتوانست مانع تجمع نیتروژن نیتراتی شود (Davidson *et al*., 2011). این مساله ناشی از توانایی ازن در تبدیل آمونیاک و نیتریت به نیترات می باشد (Hunter, 2000; Summerfelt, 2003; Tango and Gagnon, 2003; Buchan *et al*., 2005; Coman *et al*., 2005; Ritar *et al*., 2006; Sharrer and Summerfelt, 2007. Gongalves and Gagnon. 2011). افزایش شدید غلظت نیترات متاثر از ازن زنی، در این پژوهش بخاطر واکنش اکسیداسونی نیتریت می باشد.

بررسی نتایج نیتریت نشان داد که ازن به طور بسیار موثری موجب کاهش غلظت آن شده است و می توان کاهش ۵۸/۷۲ درصدی آن را ناشی از ازن دانست؛ نتایج مشابه در پژوهش های دیگر نیز بدست آمده است به طور مثال در پژوهشی بر ماهی قزل آلا مشاهده شد که ازن زنی در سیستم گردش آب موجب کاهش موثر نیتریت می‌شود (Bullek *et al* ., 1997)، همچنین در پژوهشی دیگر بر روی همین ماهی مشخص شد که ازن زنی موجب کاهش نیتریت به مقدار تقریبا ۸۲ درصد می‌گردد (Samerfelt *et al*., 1997) و در پژوهشی بر ماهی توربوت (*P. maxima*) در طی دوره ۹۰ روزه، ازن زنی موجب کاهش معنی دار نیتریت در آب پرورشی نسبت به گروه کنترل شده است (Powella *et al*., 2015). در کل، ازن با کاهش نیتریت موجب بهبود کیفیت آب پرورش ماهی می شود (Riter *et al*., 2006, Sharer 2007). علت این مساله در توان اکسایشی شدید ازن است، چرا که ازن به راحتی می‌تواند موجب تبدیل نیتریت به نیترات گردد (Summerfelt *et al*., 2009)؛ این واکنش غیر وابسته به pH بوده(Liu *et al*., 2001) و در محیط های آبی مختلف، بسته به گونه های آبزی پرورشی عملکرد مناسب از خود نشان می دهد. نتایج آمونیاک کل حاکی از این است که ازن نتوانسته تاثیر معنی داری داشته باشد، این مساله در تحقیق ها مختلف نتایج ضد و نقیضی را در پی داشته است؛ نتایج مخالف به این ترتیب هست که در پژوهشی در سیستم پرورش ماهی قزل آلای رنگین کمان با نرخ ازن، متوسط و بالا با تزریق پیوسته مشاهده شد که نیتروژن آمونیاکی در سیستم ازن زنی شده پایین‌تر بود اما آن هم همیشه معنی دار نبود (Davidson *et al*., 2011). ازن با کاهش آمونیاک موجب بهبود کیفیت آب پرورش ماهی می شود (Riter *et al*., 2006, Sharer 2007). ازن به راحتی می تواند موجب تبدیل آمونیاک به نیترات گردد (Summerfelt, 2003; Tango and Gagnon, 2003; Buchan *et al*., 2005; Coman *et al*., 2005; Ritar *et al*., 2006; Gongalves and Gagnon. 2011) لازم به ذکر است که سرعت اکسید شدن آمونیاک در pH کمتر از ۹/۳ بسیار پایین بوده (Khuntia *et al*., 2013) و زمان بیشتری برای در معرض ازن بودن نیاز است؛ به نظر می رسد که کوتاه بودن دوره های ازن زنی در روش تزریق سریالی، عامل عدم کاهش معنی دار غلظت آمونیاک در این پژوهش بوده است. بررسی نتایج فسفر کل مشخص کرد که در این پژوهش ازن نتوانسته به طور معنی داری بر آن تاثیر بگذارد.

به طور کلی، نتایج این مطالعه نشان داد که ازن‌زنی سریالی روش مناسبی برای حفظ کیفیت آب پرورشی است. کاهش غلظت نیتریت از یکسو و بهبود عملکرد رشد ماهی از سوی دیگر بیانگر توانایی روش ازن‌زنی سریالی بر تولید ماهی قزل آلای رنگین

کمان است. البته در این روش احتمال ورود دوزهای کشنده به بخش پرورشی بسیار کمتر بوده و روش قابل کنترل تر و ارزانتری نیز می باشد.

منابع:

Ai, Q., Mai, K., Tan, B., Xu, W., Duan, Q., Ma, H., and Zhang, L. 2006. Replacment of fish meal by meat and bone meal in diets for large Yellow croaker (pseudosciae nacrocea). Aquaculture, 260: 255-263.

Badiolaa .M, D. Mendiolaa, J. Bostock. 2012. Recirculating Aquaculture Systems (RAS) analysis: Main issues on management and future challenges. Aquacultural Engineering 51 (2012) 26–35.

Brazil, B.L., 1996. Impact of ozonation on system performance and growth characteristics of hybrid striped bass (Morone chrysops×M. saxatilis) and tilapia hybrids (Sarotherodon sp.) reared in recirculating aquaculture systems. Ph.D. Dissertation. Virginia Polytechnic Institute and State University, Blacksburg, VA.

Buchan, K.A.H., D.J. Martin. Robichaud, and T.J. Benfey, "Measurement of Dissolved Ozone in Sea Water: A Comparison of Methods", Aquaculture. Eng., 33(3):225–231 (2005).

Bullock, G.L., S.T. Summerfelt, A.C. Noble, A.L. Weber, M.D. Durant, and J.A. Hankins, "Ozonation of a Recirculating Rainbow Trout Culture System. I. Effects on Bacterial Gill Disease and Heterotrophic Bacteria", Aquaculture, 158:43–55 (1997).

Chen. C.Y, G. A. Woostera, R. G. Getchella, P. R. Bowsera, M. B. Timmons. 2003. Blood chemistry of healthy, nephrocalcinosis-affected and ozone-treated tilapia in a recirculation system, with application of discriminant analysis. Aquaculture 218. Pages 89–102.

Coman, G.J., M.J. Sellars, and D.T. Morehea, "Toxicity of Ozone Generated From Different Combinations of Ozone Concentration (C) and Exposure Time (T): A Comparison of the Relative Effect of C and T on Hatch Rates of Penaeus (Marsupenaeus) japonicus Embryos", Aquaculture, 244:141.145 (2005).

Davidson, J., Good, C., Welsh, C., Brazil, B., Summerfelt, S., 2009. Heavy metal and waste metabolite accumulation and their potential effect on rainbow trout performance in a replicated water reuse system operated at low or high flushing rates. Aquaculture. Eng. 41, 136–145.

Davidson, J., Good, C.,Welsh,C.,Summerfelt,S.,2011.Theeffectsofozoneand water exchange rates on water quality and rainbow trout Oncorhynchus mykiss performance in replicated water reuse systems. Aquacult .Eng. 44,80–96.

Easter, C. 1992. Water chemistry characterization and component performance of a recirculating.aquaculture system producing hybrid striped bass. Master's thesis, Virginia Polytechnic Institute and State University.

Eaton, A. D., Clesceri, L. S., Greenberg, A. E., & Franson, M. A. H. (2005). Standard methods for the examination of water and wastewater. American public health association, 1015, 49-51.

FAO, 2015. Food Outlook, Global Marked Analysis. http://www.fao.org/3/a-I4581E.pdf

Fukunaga, K., Suzuki, T., Arita, M., Suzuki, S., Hara, A., Yamauchi, K., Shinriki, N., Ishizaki, K., Takama, K., 1992. Acute toxicity of ozone against morphology of gill and erythrocytes of Janpanese charr (Salvelinus leucomaenis). Comp. Biochem. Physiol. C: Pharmacol. Toxicol. Endocrinol, 101, pages 331-336.

Gongalves. A. A and A. G. Gagnon., 2011.Ozone Application in Recirculating Aquaculture System: An Overview. Ozone: Science & Engineering: The Journal of the International Ozone Association 33: 345–367.

Herbst, J.L. 1994. The effects of ozone treatment on chemical parameters of a recirculating aquaculture system producing hybrid striped bass. Master's thesis, Virginia Polytechnic Institute and State University.

Hevroy, E.M., Espe, M., Waagbo, R., Sandness, K., Round, M., and Hemer, G.L. 2005. Nutrition utilization in Atlantic salmon (Salmo salar) fed increased level of fish protein hydrolysate during a period of fast growth. Aquaculture Nutrition, 11: 301-313.

Hunter, J. "Sterilization by Use of Ozone: Correct Airflow Requirements". In: Escobal, P.R. (ed.), Aquatic Systems Engineering: Devices and How They Function. 2nd Ed., p. 157–166 (Oxnard, CA (USA): Dimension Engineering Press, 2000).

Kebus M. J, M. T. Collins, M. S. Brownfield, C. H. Amundson, T. B. Kayes & J. A. Malison (1992) Effects of Rearing Density on the Stress Response and Growth of Rainbow Trout, Journal of Aquatic Animal Health,4:1, 1-6,

Khuntia, S., Majumder, S & Ghosh, P. 2012. Removal of ammonia from water by ozone microbubbles. Industrial & Engineering Chemistry Research, 52(1), 318-326.

Liu.Q, Lynn M. Schurter, Charles E. Muller, Simone Aloisio, Joseph S. Francisco, and Dale W. Margerum.

Kinetics and Mechanisms of Aqueous Ozone Reactions with Bromide, Sulfite, Hydrogen Sulfite, Iodide, and Nitrite Ions. Department of Chemistry, Purdue University, West Lafayette, Indiana 47907-1393

Martins, C.I.M.,Ochola,D.,Ende,S.S.W.,Eding,E.H.,Verreth,J.A.J.,2009a.Is growth retardation present in Nile tilapia Oreochromis niloticus cultured in low water exchange recirculating aquaculture systems, Aquaculture298, 43–50.

Martins,C.I.M.,Pistrin,M.G.,Ende,S.S.W.,Eding,E.H.,Verreth,J.A.J.,2009b.The accumulation of substances in recirculating aquaculture systems(RAS)affects embryonic and larval development in common carp, Cyprinus carpio. Aquaculture 291, 65–73.

Powella. A, P. Chingombea, I. Lupatscha, R. J. Shieldsa, R. Lloyda. 2015. The effect of ozone on water quality and survival of turbot (Psetta maxima) maintained in a recirculating aquaculture system. Aquacultural Engineering 64 (2015) 20–24.

Rafatnezhad, S., Falahatkar, B., Tolouei Gilani, M.H., 2008. Effects of stocking density on haematological parameters, growth and fin erosion of great sturgeon (Huso huso) juveniles, Aquaculture Research, 39, 1506–1513.

Reiser, S., Wuertz, S., Schroeder, J.P., Kloas, W., Hanel, R., 2011. Risks of seawater ozonation in recirculation aquaculture – Effects of oxidative stress on animal welfare of juvenile turbot (Psetta maxima, L.). Aquat. Toxicol, 105, 508-517.

Ritar, A.J., G.G. Smith, and C.W. Thomas. 2006. Ozonation of Seawater Improves the Survival of Larval Southern Rock Lobster, Jasus edwardsii, in Culture from Egg to Juvenile. Aquaculture, 261:1014–1025.

Ritola, O., T. Lyytikainen, P. Pylkko, H. Molsa, and P. Lindström-Seppa. 2000. Glutathione-Dependent Defence system and MONOOXYGENASE ENZYME ACTIVITIES in Arctic Charr Salvelinus alpinus (L.) Exposed to Ozone. Aquaculture, 185:219–233.

Sharrer, M.J. and S.T. Summerfelt. 2007. Ozonation Followed by Ultraviolet Irradiation Provides Effective Bacteria Inactivation in a Freshwater Recirculating System. Aquaculture. Eng., 37:180–191.

Shimura, R.,Ma,Y.X.,Ijiri,K.,Nagaoka,S.,Uchiyama,M.,2004.Nitrate toxicity on visceral organs of Medaka fish, Oryzias latipes: aiming to raise fish from egg to egg in space.Biol.Sci.Space18(1),7–12.

Summerfelt, S. T., Sharrer, M. J., Tsukuda, S. M., & Gearheart, M. (2009). Process requirements for achieving full-flow disinfection of recirculating water using ozonation and UV irradiation. Aquacultural Engineering, 40(1), 17-27.

Summerfelt, S.T. 2003. Ozonation and UV irradiation—an introduction and examples of current applications Aquacultural Engineering. Vol 28, Is1–2, June 2003, P 21–36.

Summerfelt, S.T., J.A. Hankins, A.L. Weber, and M.D. Durant, “Ozonation of a Recirculating Rainbow Trout Culture System. II. Effects on Microscreen Filtration and Water Quality”, Aquaculture, 158:57–67 (1997).

Sutterlin, A.M., Courier, C.Y., Devereaux, T., 1984. A recirculation system using ozone for the culture of Atlantic salmon. Prog. Fish Cult. 46, 239–244.

Tango, M.S. and G.A. Gagnon, “Impact of Ozonation on Water Quality in Marine Recirculation Systems”, Aquaculture. Eng., 29:125–137 (2003).

Wedemeyer, G.A., N.C. Nelson, and W.T. Yasutake. 1979. Physiological and biochemical aspects of ozone toxicity to rainbow trout (Salmo gairdneri). J. Fisher. Res. Bd. Can., 36:605–614.

Xian. L, P. Cyrille, T. Sebastien, L. Ying, B. Jean-Paul. 2015. Long-term effects of moderate elevation of oxidation-reduction potential on European seabass (Dicentrarchus labrax) in recirculating aquaculture systems. Aquacultural Engineering.Vol 64, Pages 15-19.