

Seguimiento de la infestación y evaluación de métodos de control
químico de las especies de mejillón incrustante *Mytilopsis*
trautwineana (Tryon, 1866) y *Perna viridis* (Linnaeus, 1758) en
piscinas de engorde de la finca camaronera C.I. OCEANOS S.A.-
Cartagena de Indias

ISABEL CRISTINA CALDERÓN AGUADO

Documento final del trabajo de grado para optar al título de Biólogo Marino

UNIVERSIDAD DE BOGOTÁ JORGE TADEO LOZANO
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES
PROGRAMA DE BIOLOGÍA MARINA
SANTA MARTA
2010

Seguimiento de la infestación y evaluación de métodos de control
químico de las especies de mejillón incrustante *Mytilopsis*
trautwineana (Tryon, 1866) y *Perna viridis* (Linnaeus, 1758) en
piscinas de engorde de la finca camaronera C.I. OCEANOS S.A.-
Cartagena de Indias

ISABEL CRISTINA CALDERÓN AGUADO

Documento final del trabajo de grado para optar al título de
Biólogo Marino

Director

ENRIQUE DE LA VEGA

Biólogo Marino y Acuicultor, Ph. D.

Asesor

MARCELA SALAZAR VALLEJO

Medico, Ph. D.

UNIVERSIDAD DE BOGOTÁ JORGE TADEO LOZANO

FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES

PROGRAMA DE BIOLOGÍA MARINA

SANTA MARTA

2010

NOTA DE ACEPTACIÓN

FIRMA DEL DIRECTOR

FIRMA DEL JURADO

FIRMA DEL JURADO

Bogotá_____ de _____, _____

*A mis papás Julián y Clara Inés,
mi razón de vida,
mi motivo de alegría.*

AGRADECIMIENTOS

A la empresa camaronera C.I. OCEANOS S.A. por permitirme realizar mi trabajo de grado y brindarme toda la ayuda necesaria durante el proceso.

A la Universidad Jorge Tadeo Lozano por su contribución en mi formación profesional y personal.

Al Dr. Enrique De La Vega y a la Dra. Marcela Salazar por su invaluable aporte en la realización del presente trabajo. Por guiarme durante todo el proceso y brindarme las herramientas necesarias para enfocarlo de la mejor manera.

Al Dr. David Aldridge y James Cock por su importante colaboración en la realización de los ensayos de control químico y su incondicional colaboración.

Especialmente a mis papás Julián Calderón y Clara Inés Aguado por ser las ganas, la fuerza, la razón y el sentido de todo. Por cada una de sus palabras. Por creer en mí con los ojos cerrados. A mis hermanos Maria Clara y Julián por ser parte de mí, por escucharme siempre.

A David Sepúlveda, Esperanza Galindo y Andrea Yepes por ser unas personas excepcionales. Por estar siempre presentes dándome todo su apoyo, compañía y amistad, y por hacer de toda esta experiencia algo inolvidable.

A Camilo Montaña por ser una voz de aliento y ese empuje constante. Por estar pendiente de cada cosa y ser esa persona tan especial.

A Federico Maldonado por leer tantas veces el documento y llenármelo de correcciones y a todos aquellos que de alguna manera contribuyeron en la realización del trabajo GRACIAS!!

TABLA DE CONTENIDO

1.	INTRODUCCIÓN JUSTIFICADA	1
2.	MARCO TEÓRICO	6
2.1.	ASPECTOS GENERALES DE LOS BIVALVOS	6
2.1.1.	Familia Dreissenidae.	7
2.1.2.	Familia Mytilidae.....	11
2.2.	MEDIDAS DE CONTROL APLICADAS POST-INTRODUCCIÓN	13
3.	ESTADO DEL ARTE	17
3.1.	IMPACTO DE LA PRESENCIA DE MEJILLÓN EN PISCINAS DE ACUACULTURA 17	
3.2.	CONTROL QUÍMICO	17
3.3.	TECNICAS DE PREVENCIÓN Y MANEJO DE ESPECIES INVASORAS	22
4.	PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN	24
5.	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	25
6.	HIPÓTESIS.....	26
7.	VARIABLES-INDICADORES	27
8.	METODOLOGÍA	28
8.1.	AREA DE ESTUDIO	28
8.2.	FASE DE CAMPO.....	30
8.2.1.	Sistema de monitoreo de <i>M. trautwineana</i> y <i>P. viridis</i>	30
8.2.2.	Variables físico-químicas.	32
8.2.3.	Variables bióticas.	32
8.2.4.	Ensayos de control químico.	33
8.2.5.	Ensayos en piscinas.....	33
8.3.	FASE DE LABORATORIO.....	35
8.3.1.	Sistema de monitoreo de <i>M. trautwineana</i> y <i>P. viridis</i>	35
8.3.2.	Ensayos de control químico.	35
8.3.3.	Variables físico-químicas.	42
8.3.4.	Variables bióticas.	43
8.4.	FASE DE GABINETE	43
8.4.1.	Sistema de monitoreo de <i>M. trautwineana</i> y <i>P. viridis</i>	43
8.4.2.	Parámetros productivos de camarón en piscinas infestadas y no infestadas de mejillón <i>M. trautwineana</i> y <i>P. viridis</i>	44
8.4.3.	Control químico de <i>M. trautwineana</i> y <i>P. viridis</i>	45
8.4.4.	Ensayos en piscinas.....	45
8.4.5.	Parámetros productivos del camarón <i>L. vannamei</i> en piscinas tratadas con sulfato de cobre.	45
8.4.6.	Variación de la turbidez en piscinas después de la aplicación de CuSO_4 46	

9.	RESULTADOS	47
9.1.	SEGUIMIENTO PISCINAS Y RESERVORIOS.....	47
9.1.1.	Piscinas de baja y alta infestación	47
9.1.2.	Reservorios de media y alta infestación	48
9.2.	PARAMETROS PRODUCTIVOS DE CAMARON EN PISCINAS INFESTADAS Y NO INFESTADAS DE MEJILLÓN <i>M. trautwineana</i> y <i>P. viridis</i>	49
9.3.	CONTROL QUÍMICO	50
9.3.1.	Ensayos experimentales en acuarios.....	50
9.3.2.	Ensayos en piscinas.....	65
9.3.3.	Parámetros productivos del camarón <i>L. vannamei</i> en piscinas tratadas con sulfato de cobre.	67
9.3.4.	Variación de la turbidez en piscinas después de la aplicación de CuSO_4 68	
10.	DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	70
10.1.	SEGUIMIENTO DE PISCINAS Y RESERVORIOS.....	70
10.1.1.	Piscinas de baja y alta infestación	70
10.1.2.	Reservorios de media y alta infestación	72
10.1.3.	Colonización de mejillón en las piscinas camaroneras.....	72
10.2.	PARAMETROS PRODUCTIVOS DE CAMARON EN PISCINAS INFESTADAS Y NO INFESTADAS DE MEJILLÓN <i>M. trautwineana</i> y <i>P. viridis</i>	73
10.3.	CONTROL QUÍMICO	74
10.3.1.	Ensayos experimentales en acuarios.....	74
10.3.2.	Ensayos en piscinas.....	81
10.3.3.	Parámetros productivos del camarón <i>L. vannamei</i> en piscinas tratadas con sulfato de cobre.	81
10.3.4.	Variación de la turbidez en piscinas después de la aplicación de CuSO_4 82	
11.	CONCLUSIONES.....	84
12.	RECOMENDACIONES.....	86
13.	BIBLIOGRAFÍA.....	87

LISTADO DE TABLAS

Tabla 1. Variables dependientes, independientes e indicadores.....	27
Tabla 2. Comparación entre variables en piscinas de baja y alta infestación. Se especifica la media $\pm$ desviación estándar.....	48
Tabla 3. Comparación entre variables de reservorios de media y alta infestación. Se especifica la media $\pm$ la desviación estándar.....	48
Tabla 4. Parámetros productivos de los 10 pares de piscinas infestadas y no infestadas analizadas	49
Tabla 5. DL50 264 h de los compuestos evaluados en las especies de mejillón <i>M. trautwineana</i> y <i>P. viridis</i>	55
Tabla 6. DL50 240 h del sulfato de cobre libre en las especies <i>M. trautwineana</i> y <i>P. viridis</i>	58
Tabla 7. DL50 264 h de biobalas de sulfato de cobre al 30 % en <i>P. viridis</i>	61

LISTADO DE FIGURAS

Figura 1. Mejillón falso, <i>Mytilopsis trautwineana</i> , longitud anteroposterior 17 mm. Imagen de I. Calderón (2009)	8
Figura 2. Mejillón verde, <i>Perna viridis</i> , longitud anteroposterior 35 mm. Imagen de I. Calderón (2009)	12
Figura 3. Finca camaronera C.I. OCEANOS S.A. Tomado de Google Earth™ 2008. ...	29
Figura 4. Estaciones de muestreo para monitoreo de <i>M. trautwineana</i> y <i>P. viridis</i> , ubicadas cerca de las estructuras de entrada y salida, como también en el canal reservorio.....	30
Figura 5. Cuerda de fijación o colector empleado para la adhesión de mejillón. Para su elaboración se empleó 2,5 m de cuerda de ½ pulgada, una boya (botella plástica) y una pesa (ladrillo). La estructura abarca toda la columna de agua verticalmente.....	31
Figura 6. Cajas fabricadas en madera y malla cuya finalidad es comprobar la efectividad del tratamiento con sulfato de cobre libre en la columna de agua. Estas son instaladas con mejillones dentro de las piscinas que vayan a recibir tratamiento, y revisadas cinco días después.	34
Figura 7. Diagrama de ensayos realizados en acuarios para el control químico de las especies de mejillón <i>M. trautwineana</i> y <i>P. viridis</i>	36
Figura 8. Peso promedio final (g), crecimiento (g/semana), porcentaje de sobrevivencia, factor de conversión alimenticia y productividad (Kg/Ha/día) de <i>L. vannamei</i> en piscinas infestadas y no infestadas. Se registró un mayor factor de conversión alimenticia ($p = 0,004$) y una menor productividad ($p = 0,02$) en piscinas con mejillón. Las graficas muestran la media $\pm$ desviación estándar... ..	50
Figura 9. Mortalidad acumulada de las especies <i>M. trautwineana</i> y <i>P. viridis</i> después del tratamiento con biobalas de CuSO_4 al 20 %. A) En <i>M. trautwineana</i> se generó el 90 % de mortalidad a 5 ppm de biobalas el día 11 ($p < 0,0001$) B) En <i>P. viridis</i> , la concentración de 2,5 ppm de biobalas produjo el 100 % de mortalidad el día nueve.....	52
Figura 10. Mortalidad acumulada de las especies <i>M. trautwineana</i> y <i>P. viridis</i> después del tratamiento con biobalas de amina cuaternaria (DB45) al 20 %. La concentración de 5000 ppm de biobalas generó el 100 % de mortalidad el día 11 en las especies <i>M. trautwineana</i> (A) y <i>P. viridis</i> (B).....	53
Figura 11. Mortalidad acumulada de <i>M. trautwineana</i> y <i>P. viridis</i> después del tratamiento con sulfato de cobre libre a cinco concentraciones distintas. A) En <i>M. trautwineana</i> , se generó el 80 % de mortalidad a 1 ppm el día nueve. B) En <i>P. viridis</i> , a 0,5 ppm se produjo el 92 % de mortalidad el sexto día.	54
Figura 12. Log DL50 264 h de las biobalas de sulfato de cobre al 20 %, amina cuaternaria al 20 % y del sulfato de cobre libre en las especies <i>M. trautwineana</i> y <i>P. viridis</i>	56

Figura 13. Mortalidad acumulada de <i>M. trautwineana</i> y <i>P. viridis</i> después del tratamiento con sulfato de cobre libre a cuatro concentraciones diferentes. A) En <i>M. trautwineana</i> , la concentración de 2 ppm generó el 70 % de mortalidad el octavo día. B) En <i>P. viridis</i> , concentraciones de 1; 1,5 y 2 ppm produjeron el 96, 100 y 98 % de mortalidad los días 5 en el primer y último caso y 7 en el segundo.....	57
Figura 14. Log DL50 240 h del sulfato de cobre libre en las especies de mejillón <i>M. trautwineana</i> y <i>P. viridis</i> . En ambos casos, el valor R^2 es bajo, 0,52 y 0,48 en <i>M. trautwineana</i> (A) y 0,483 en <i>P. viridis</i> (B) respectivamente, indicando que la regresión no es muy confiable.....	58
Figura 15. Mortalidad acumulada de <i>M. trautwineana</i> y <i>P. viridis</i> luego del tratamiento con biobalas de sulfato de cobre al 30 %. A) En <i>M. trautwineana</i> la concentración de 2 ppm generó el 40 % de mortalidad el día nueve. B) En <i>P. viridis</i> la concentración de 2 ppm de biobalas logró el 100 % de mortalidad el quinto día.	60
Figura 16. LogDL50 264 h con biobalas de CuSO_4 al 30 % sobre <i>P. viridis</i> . El valor calculado fue de $-0,393 \pm 0,103$ ppm. Sin embargo, el $R^2 = 0,404$, indicando que la regresión no es muy confiable.	61
Figura 17. Mortalidad acumulada de <i>M. trautwineana</i> y <i>P. viridis</i> tras el tratamiento con sulfato de cobre y ácido cítrico. A) En la especie <i>M. trautwineana</i> el tratamiento generó el 50 % de mortalidad a una relación de 10:1. B) En todos los tratamientos evaluados el porcentaje de mortalidad aumentó a partir del segundo día ($p < 0,0001$), alcanzando el 100 % en todos los casos.	62
Figura 18. Mortalidad acumulada de <i>M. trautwineana</i> mediante dos métodos de aplicación del sulfato de cobre libre al 1 % de la alcalinidad. En ambos casos el tratamiento alcanzó una mortalidad del 100 % el día seis ($p < 0,0001$).	63
Figura 19. Mortalidad acumulada de las especies <i>M. trautwineana</i> y <i>P. viridis</i> después del tratamiento con hipoclorito de calcio. A) En <i>M. trautwineana</i> a una concentración de 50 ppm logró el 38 % de mortalidad el día 11. B) <i>Perna viridis</i> alcanzó el 36 % de mortalidad a 50 ppm el día 11.	64
Figura 20. Mortalidad acumulada de <i>L. vannamei</i> después del tratamiento con CuSO_4 libre a tres concentraciones diferentes. A una concentración de 2 ppm se generó el 7 % de mortalidad.....	65
Figura 21. Porcentaje de mortalidad de la especie <i>P. viridis</i> en las cajas ubicadas en la entrada y salida de las piscinas.....	66
Figura 22. Porcentaje de mortalidad de la especie <i>M. trautwineana</i> en las cajas ubicadas en la entrada y salida de las piscinas.....	66
Figura 23. Comparación de crecimiento entre piscinas en producción mayores a 50 días con y sin tratamiento de CuSO_4 , resaltando la media de los datos analizados. En azul piscinas sin algicida y en morado las piscinas con aplicación de CuSO_4	68
Figura 24. Crecimiento antes y después de la aplicación de sulfato de cobre dividido por semanas. El crecimiento semanal incrementa cada vez más y no vuelve a alcanzar los valores presentados antes del tratamiento.....	68

Figura 25. Comparación entre la turbidez en piscinas antes y después del tratamiento con CuSO_4 . Antes de la aplicación el nivel de disco secchi es mayor, indicando una menor turbidez que después del tratamiento..... 69

RESUMEN

La infestación de mejillón en piscinas camaroneras ha generado grandes pérdidas económicas, comprometiendo así la rentabilidad del negocio. Lo anterior debido a que influye en la disminución de la producción (Kg/Ha/día) de las piscinas y afecta el crecimiento (g/semana) y la sobrevivencia (%) del camarón. Este trabajo busca establecer métodos de control químico efectivos contra las especies *Mytilopsis trautwineana* y *Perna viridis* en la finca camaronera C.I. OCEANOS S.A. Igualmente describe el comportamiento de las poblaciones dentro de las piscinas camaroneras, indicando si la infestación ocurre una o varias veces durante un ciclo de producción. Se establece también una relación entre las variables físicas, químicas y/o biológicas y la presencia de mejillón (baja, media y alta infestación). Finalmente se identifican los parámetros productivos de camarón afectados por la presencia de éstos bivalvos. A través del sistema de monitoreo de mejillón adulto se estableció que la entrada de larvas a las piscinas ocurre varias veces durante un ciclo de producción. Se comprobó también, mediante un análisis estadístico, que las piscinas con mejillón presentan una menor productividad (Kg/Ha/día), un mayor factor de conversión alimenticia, así como también una tendencia a una disminución en la sobrevivencia (%) y crecimiento del camarón (g/semana). No se logró identificar las variables que influyen en la presencia de mejillón en las piscinas y reservorios. Los resultados indican que el sulfato de cobre al 1 % de la alcalinidad total del agua genera un control efectivo contra la especie *P. viridis*. No fue posible establecer un método de control efectivo contra *M. trautwineana*, ya que el porcentaje de mortalidad de ésta fue variable en los ensayos realizados. Se comprobó que este compuesto no resulta tóxico para el camarón blanco *Litopenaeus vannamei*, por lo cual el tratamiento con éste se extendió a piscinas en producción.

ABSTRACT

Mussel infestation in shrimp ponds has generated great economic losses, jeopardizing the profitability of the business. It influences the production (Kg/Ha/day) decline, and affects the growth (g/week) and survival (%) of the shrimps. This work seeks to establish chemical effective methods against the mussel species *Mytilopsis trautwineana* and *Perna viridis* in the shrimp farm C.I. OCEANOS S.A. It also describes the mussel population behavior in shrimp ponds, and identifies whether the infestation occurs once, or several times during a production cycle. It also aims to establish a relationship between physical, chemical and/or biological variables and the presence of mussels in shrimp ponds. Finally, it identifies the shrimp production parameters affected by the presence of these bivalves. Through the monitoring system, it was established that the entry of the mussel larvae to the ponds occurs several times during a production cycle. It was also proved, by statistical analysis, that ponds infested with mussels have a lower production (Kg/Ha/day), increased feed conversion factor, as well as a trend to a decrease in survival (%) and growth (g/week) in shrimps. It was not possible to identify the variables that influence the mussel presence in ponds and reservoirs. Results indicate that copper sulphate at 1 % of total alkalinity of water, generates an effective control against *P. viridis*. It was not possible to establish an effective control method against *M. trautwineana*, as the rate mortality was variable in the experiments. It was found that this compound is not toxic to the white shrimp *Litopenaeus vannamei*, that's why treatment was extended to shrimp ponds in production.

1. INTRODUCCIÓN JUSTIFICADA

El término peste o plaga hace referencia a aquellas especies, generalmente introducidas en un sistema, sobre las cuales se hayan efectuado esfuerzos para su control. Varios estudios realizados sustentan que las aguas de lastre y la dispersión larval son los mecanismos más importantes en la diseminación de plagas marinas, salobres y de agua dulce. Generalmente, las especies exóticas invasoras incrustantes (como mejillones) son tolerantes a altos niveles de polución y tanto su desarrollo como su reproducción ocurren en cortos periodos de tiempo dentro de un amplio rango de condiciones ambientales. La alta densidad que alcanzan, en comparación a zonas donde son endémicas, es la principal causa de importantes pérdidas económicas (Lafferty y Kuris, 1996; Tan y Morton, 2006).

Se han registrado numerosos mecanismos potenciales de migración de mejillones larvales y adultos que explican su rápida expansión en el mundo. Muchos de estos son naturales como por ejemplo corrientes de agua, aves, insectos y otros animales. Sin embargo, la mayoría son mediados por el hombre mediante cursos de agua artificiales, barcos, actividades de pesca, aviones anfibio, entre otros. El estado larval veliger es probablemente la forma natural más efectiva de dispersión ya que pueden atravesar continentes rápidamente corriente abajo (Mackie, 1996).

La extensa invasión en ambientes de agua dulce del mejillón cebra, *Dreissena polymorpha*, familia Dreissenidae, durante las dos últimas décadas la ha catalogado dentro de las diez especies más peligrosas a nivel ecológico y económico del mundo según la UICN (Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza) (Durán *et al.*, 2007). Nativa del Mar Negro, Caspio y Aral, esta especie fue introducida en algunos puertos de agua dulce de Europa a finales del siglo XVIII. Transcurridos 150 años de su introducción, ya se registraba en cursos de agua dentro del continente europeo (O'Neill Jr. y MacNeill, 1991). No se conoce con exactitud el camino por el

cual logró invadir Norte América, sin embargo aparece por primera vez en las cuencas de los Grandes Lagos, específicamente en el Lago St. Clair (Norte América), ubicado entre Ontario-Canadá y Michigan-Estados Unidos, en 1980. *Dreissena polymorpha* se ha convertido en la principal especie incrustante, obstruyendo caños y válvulas, recargando los cables y maquinaria de las plantas hidroeléctricas y embarcaciones de navegación (Pathy y Mackie, 1993; Claudi y Mackie, 1994), generando un costo, tan solo en Norte América, entre los uno y cinco billones de dólares por año. Así mismo, la rápida expansión de especies invasoras pertenecientes a la misma familia como el mejillón rayado negro, *Mytilopsis sallei*, generada como resultado del aumento en el tráfico de buques trans-oceánicos, conlleva también serios problemas económicos y de salud (Aldridge *et al.*, 2006; Tan y Morton, 2006).

Durante los últimos años el sector camaronero en el Caribe colombiano se ha visto afectado por la presencia de dos especies de mejillón, *Mytilopsis trautwineana* (Tryon 1866) y *Perna viridis* (Linnaeus 1758) en sus piscinas, cuya infestación es una causa importante en las bajas en la productividad (Kg/Ha/día) y sobrevivencia que se han venido presentando en las fincas afectadas. Dentro de las empresas perjudicadas se encuentran C.I. OCEANOS S.A. y C.I. CARTAGENERA DE ACUACULTURA S.A., donde las bajas de sobrevivencia se han estimado alrededor del ~15 y ~10 % respectivamente. La presencia del mejillón genera también una mayor conversión alimenticia (~10 %) y una menor utilidad operacional (EBITDA) 44 %. Adicionalmente las piscinas afectadas registran una reducción del 13,64 % en el crecimiento semanal del camarón, *Litopenaeus vannamei*.

La especie *M. trautwineana* fue identificada a través del análisis molecular con secuenciación de los genes R18, realizado por el Dr. David Aldridge de la Universidad de Cambridge con el Centro de Investigaciones de la Acuicultura en Colombia, CENIACUA (Aldridge *et al.*, datos sin publicar). *Perna viridis* fue identificada

mediante rasgos morfológicos por el Dr. en Ciencias Naturales, Juan Manuel Díaz Merlano. Esta información fue verificada por el Dr. David Aldridge durante su visita a Colombia en abril del 2009.

Los principales problemas que ocasiona la colonización del mejillón en un nuevo hábitat, particularmente en piscinas camaroneras son: 1) cambios en la composición y abundancia de las especies micro, fitoplanctónicas y zooplanctónicas debido a su respiración; 2) oligotrofia biológica como también una disminución en los niveles de oxígeno disuelto producidos por la eliminación del fitoplancton; 3) modifican la producción primaria y bacteriana de la columna de agua por las variaciones en el balance de nutrientes en el agua como en los sedimentos de fondo 4) incremento en la transparencia del agua debido a la eliminación del seston, generando condiciones bentónicas favorables para la proliferación de algas y macrófitas acuáticas, favoreciendo a su vez la predación por aves, así mismo crea estrés en los camarones, desplazándolos hacia el fondo donde las altas poblaciones de mejillón dificultan su alimentación; 5) acumulación y deposición de contaminantes como los metales pesados zinc, cadmio, plomo y cobre, y oligoelementos; 6) afecta la estimación de biomasa del camarón, lo cual altera la dosificación de alimento; 7) eliminación de minerales requeridos para la fabricación de la concha y 8) caída en la alcalinidad de carbonatos (Durán *et al.*, 2007).

Ambas especies identificadas se adhieren especialmente a las estructuras de entrada y salida, a las boyas de los aireadores y a los fondos de las piscinas. En la finca C.I. OCEANOS S.A. se han realizado varios esfuerzos para controlar de manera física y química su infestación. Dentro de los métodos físicos empleados se encuentra la remoción manual mediante el raspado por parte del personal en las estructuras de entrada, salida y aireación de las piscinas. Se han instalado compuertas que impiden grandes aportes de agua dulce por parte del caño de Matunilla al canal reservorio, previniendo así cambios bruscos en la salinidad, factor

que induce el desove en mejillones (Ramachandra *et al.*, 1975; Puyana, 1995). Actualmente se está probando la instalación de mallas de diferente diámetro de poro en la entrada de las piscinas, en el lado del canal reservorio, formando una especie de medialuna, con la finalidad de regular la entrada de larvas y su posterior fijación. Durante la fase de preparación de fondo se realiza el secado de la piscina durante mínimo 20 días entre cosecha y siembra, lo cual favorece la oxigenación del fondo y la eliminación de patógenos y predadores, entre los que se encuentran peces y mejillones. Este se efectúa mediante la instalación de una bomba de achique que se ubica en la estructura de salida de la piscina. Antes de la siembra las balizas donde se ponen los comederos, y los cables eléctricos dentro de las piscinas deben ser revisados con la finalidad de asegurar la ausencia de mejillón y ostión adherido.

Estos métodos son complementados con técnicas de control químico, las cuales incluyen la eliminación de depredadores y competidores en tablas, filtros, estructuras de entrada como también de salida así mismo en los pozos ubicados frente a éstas últimas con aplicaciones de hipoclorito de calcio. En los pozos de agua internos se realiza también esta acción correctiva. Para la erradicación de mejillón se utiliza sulfato de cobre en una concentración de 20 kg/Ha, el cual es aplicado por el personal de la finca a través de bombas manuales. Para la desinfección, el aumento de la alcalinidad y pH de fondo se desarrolla el encalamiento con carbonato de calcio (1 020 Kg/Ha) dentro de la piscina e hidróxido de calcio (400-600 Kg/Ha) para las zonas del canal interno, batea de cosecha y zonas húmedas. Finalmente se han realizado visitas a fincas en diferentes países como Guatemala que presentan el mismo problema, logrando así un intercambio positivo de técnicas de control entre las que se incluye el tratamiento con sulfato de cobre (CuSO_4) libre a la columna de agua. Hasta la fecha no se han empleado métodos de control biológico.

Con la aplicación de los métodos expuestos anteriormente, se ha logrado disminuir notoriamente la densidad alcanzada por ambas especies, aunque aún continúa el

problema. Resulta de suma importancia controlar la infestación de ambas especies de mejillón, ya que su presencia genera grandes pérdidas económicas en la industria, siendo esto preocupante pues el cultivo del camarón se presenta como una fuente alternativa de oferta de proteína animal, ingresos y empleo rural, reducción de la migración rural hacia las grandes ciudades y generación de divisas y desarrollo de regiones atrasadas cuyos terrenos son poco aptos para otras actividades agropecuarias. La empresa C.I. OCEANOS S.A. genera trabajo a más de 400 personas en la fina y 900 personas en la planta de proceso. La mayoría proceden de los pueblos y veredas vecinas. Esto representa un excelente beneficio social y una importante base económica para las comunidades de Puerto Badel, Leticia, Recreo y Pueblito en la zona de Cartagena de Indias, Colombia (Espinal *et al.*, 2005; Ministerio del Medio Ambiente, sin fecha).

Con este proyecto se pretende generar información que contribuya al control de las especies invasoras *M. trautwineana* y *P. viridis*, las cuales actualmente representan un importante factor de riesgo para el sector camaronero en el Caribe colombiano. Desafortunadamente la literatura existente sobre la primera es casi nula, por lo cual se trabajará con la bibliografía relacionada con miembros de la misma familia, principalmente *Dreissena polymorpha* y *Mytilopsis sallei*.

El proyecto se encuentra respaldado por la empresa camaronera C.I. OCEANOS S.A. y el Centro de Investigación de la Acuicultura en Colombia, CENIACUA. Además de esto cuenta con la asesoría científica del Dr. David Aldridge, Departamento de Zoología, Universidad de Cambridge.

2. MARCO TEÓRICO

2.1. ASPECTOS GENERALES DE LOS BIVALVOS

Los bivalvos, con cerca de 20 000 especies, han logrado colonizar las aguas dulces e incluso medios terrestres húmedos. Su cuerpo se caracteriza por estar comprimido lateralmente, carecen de cabeza propiamente dicha. Las funciones sensoriales son adoptadas por el manto. Las branquias tienen la función de órgano respirador y filtración del alimento. El cuerpo se encuentra contenido entre dos valvas convexas que recubren completamente el manto internamente y que se mantienen unidas por un ligamento flexible y una serie de dientes y acanaladuras que conforman la charnela. Las valvas de la concha se cierran y se abren mediante la acción de uno o dos músculos aductores, cuyo número, posición y tamaño son un carácter sistemático importante. Muchos bivalvos son de hábitos sedentarios, permaneciendo fijos al sustrato a través de los filamentos del biso, secreción proteica que al contacto con el agua se endurece pero permanece flexible, estos actúan como pegante entre la concha y el sustrato (carácter bien desarrollado en la familia Mytilidae). Debido a la condición filtradora de los bivalvos, a través del tiempo se han modificado algunas de sus estructuras del manto (sifones) y han ocurrido adaptaciones especiales en las branquias (Díaz y Puyana, 1994).

Durante su fase planctónica, las larvas de mejillón son consumidas principalmente por crustáceos zooplanctónicos (Ej. copépodos) y larvas de peces, sin embargo, el impacto de este grupo de predadores sobre la mortalidad total en esta etapa del ciclo de vida es incierto. En estado adulto, los mejillones tienen un gran número de predadores entre los que se encuentran los cangrejos de río, peces y aves acuáticas (Mackie, 1996).

2.1.1. Familia Dreissenidae.

Dentro del extenso grupo de los bivalvos se encuentra la superfamilia Dreissenacea, la cual se caracteriza por habitar en ambientes de agua dulce y estuarinos (Morton, 1981; Nuttall, 1990; Mackie, 1996). Según Nuttall (1990) aparece por primera vez en el Eoceno y en la actualidad está representada por algunos especímenes. A partir de ésta se desprende la familia Dreissenidae, la cual comprende los géneros *Dreissena* (Van Beneden, 1835) *Congeria* (Partsch, 1835) y *Mytilopsis* (Conrad, 1858).

Existen registros del género *Mytilopsis* a partir del Eoceno temprano-Plioceno. Aparece en Europa en el Oligoceno tardío y recientemente tanto en el norte como en el centro de Sur América como también el Caribe, propagándose hacia Norte América bordeando el Golfo de México al igual que el Atlántico. Se introdujo últimamente en el sur de India, Japón así como en Hong Kong y probablemente en las Islas Fiji, el oeste de África así mismo en el delta de los ríos Rhine y Scheldt, ubicados al noroeste de Europa (Nuttall, 1990).

Todas las especies pertenecientes a los géneros *Dreissena* y *Mytilopsis* son epifaunales. Viven en agrupaciones adheridas entre sí por medio de filamentos del biso (Nuttall, 1990; Mackie, 1996). La habilidad de estos organismos para acumular sustancias tóxicas, en niveles que son representativos para las condiciones integrales del ambiente, los hace ideales para la caracterización de ecosistemas específicos (Kramer *et al.*, 1989).

En el año 2005 fue identificada en la finca camaronera C.I. CARTAGENERA DE ACUACULTURA S.A., Caribe colombiano, la especie *Mytilopsis trautwineana* (Tryon, 1866), conocida vulgarmente como mejillón falso perteneciente a la familia Dreissenidae (Figura 1), por medio de análisis molecular con secuenciación de los genes R18. Esta especie es originaria de la región oriental del Pacífico colombiano y ecuatoriano. Actualmente no existen estudios biológicos referente a esta especie

(Aldridge *et al.*, 2008). Sin embargo, el mejillón cebra, *Dreissena polymorpha*, una de las especies mejor estudiadas, pertenece a la misma familia.



Figura 1. Mejillón falso, *Mytilopsis trautwineana*, longitud anteroposterior 17 mm. Imagen de I. Calderón (2009)

El mejillón cebra habita en lagos oligotróficos a hipertróficos y en aguas con un cierto grado de polución, sin embargo, en ambientes seriamente contaminados no sobrevive (Bij de Vaate, 1991). Su biología la hace ideal para explotar satisfactoriamente el hábitat de agua dulce (Rajagopal *et al.*, 1996). Presenta una fuerte adhesión mediante el biso, lo cual convierte a esta especie en la invasora incrustante más potente de las especies introducidas en Norte América (Mackie, 1991). Se ha demostrado que esta presenta un sistema de filtración muy eficiente, lo cual le permite habitar cuerpos de agua relativamente estáticos así como de corriente fuerte. La tasa de filtración es afectada por el tamaño del individuo, turbidez del agua, y ciertas concentraciones de diferentes especies de células algales y bacteriales de tamaños específicos (Mackie, 1996).

Grandes poblaciones de mejillón cebra tienen la capacidad de remover seston y clarificar el agua. Eliminan materiales suspendidos y nutrientes del agua y los depositan en el fondo como pseudoheces. Un incremento en la claridad del agua indica un aumento en la zona eufótica y una disminución en la productividad

ISABEL CRISTINA CALDERÓN A. 8

primaria debido a que, como se mencionó anteriormente, la mayoría de nutrientes han sido bio-depositados en el fondo volviéndolos accesibles para la comunidad bentónica. Posteriormente se esperaría una caída en la producción y biomasa de los autótrofos y heterótrofos pelágicos así como en comunidades zooplanctónicas herbívoras, incluyendo peces. Es por esto que eventualmente una infestación generada por esta especie puede potencialmente alterar el balance energético de la totalidad de un ecosistema pelágico-bentónico. El cambio de un ecosistema una vez regulado por energía derivada de la zona pelágica a energía obtenida de la zona bentónica puede generar severos impactos socio-económicos, especialmente para pesquerías deportivas y comerciales.

Mytilopsis sallei, especie perteneciente a la misma familia, es muy similar en este aspecto, adicionalmente presenta una tolerancia extrema a cambios de salinidad entre 0-50 ppt, sin embargo, ambientes por encima de este valor pueden ser letales debido posiblemente a las alteraciones que se presentan en el balance iónico entre los fluidos corporales y el entorno. Esta condición eurihalina resulta muy importante ya que le da la posibilidad de ser transportada a través de los océanos, así como también, le garantiza su supervivencia en estuarios tropicales y puertos donde la salinidad puede variar enormemente entre períodos de época seca y húmeda (Ramachandra *et al.*, 1975; Nuttall, 1990).

Especies como *Mytilopsis leucophaeata* en estado adulto toleran temperaturas que fluctúan entre los 5 °C en Finlandia y los 30 °C en Miami, *D. polymorpha* puede sobrevivir fácilmente a 29 °C (Verween *et al.*, 2007). Existe una teoría que argumenta que gracias a esta adaptación es posible que estos organismos desoven durante un largo periodo de tiempo. Se ha sugerido que el metabolismo de *M. sallei* es independiente a la temperatura, característica muy importante para la colonización de nuevos ambientes (Morton, 1981). Varios estudios realizados han determinado la concentración de oxígeno disuelto que requiere la especie para

desarrollarse óptimamente, algunos sustentan que el rango se encuentra entre 1,4 y 4,3 mg/L, sin embargo, trabajos posteriores han demostrado que concentraciones menores a 2,5 mg/L generan una drástica caída en su tasa metabólica (Aldridge *et al.*, 1995).

Usualmente los bivalvos presentan fecundidades altas, el mejillón cebra puede producir entre los 30 000 huevos por hembra durante el primer año de madurez sexual y logra alcanzar los 40 000 en su tercer o cuarto año de desarrollo, éstos se registran en las muestras de agua cuando ésta presenta una temperatura promedio de 15 °C. Es una especie dioica, al parecer la ovogénesis y la espermiogénesis ocurren al mismo tiempo. En el lago St. Clair, ubicado entre la frontera entre los Estados Unidos y Canadá, la mayoría de los mejillones cebra alcanzan la madurez sexual una vez su concha llega a longitudes entre los 8 y 10 mm, incluso existen datos de individuos maduros a los 5,5 mm (Mackie, 1991).

El ciclo larval del género *Dreissena* dura entre tres (Rajagopal *et al.*, 1996) y cuatro semanas en completarse (Mackie, 1991). Según Ackerman (1995), tras la fertilización de los gametos se forma en primera instancia una larva trocofora (57–121 µm) caracterizada por la presencia de cilios y un tiempo de vida relativamente corto. Transcurridas 24-48 h el desarrollo de un velo ciliado y la secreción de una concha larval (prodisoconcha I) marcan la entrada de la fase larval veliger en forma de “D” (70–160 µm). Un aumento en el tamaño y la secreción de una segunda concha (prodisoconcha II) caracterizan el estado larval veliconcha, última fase pelágica. Finalmente el desarrollo del pie y la glándula asociada del biso llevan al último estado larval conocido como pediveliger. Esta última puede nadar utilizando el velo o arrastrarse en las superficies mediante el pie. Las pediveliger son el estado larval que se asientan en una superficie. La primera fase de asentamiento es un proceso activo donde la larva pediveliger nada sobre la superficie arrastrándose hasta recibir una señal apropiada para secretar los filamentos del biso, estos le proporcionan un

anclaje mientras se metamorfosea en un mejillón, en donde el velo se absorbe y las branquias se desarrollan. Hay un cambio radical en el eje de crecimiento del mejillón dando espacio a las branquias, que se acomodan para la secreción de una concha adulta (disoconcha). Este nuevo mejillón metamorfoseado se conoce como mejillón plantigrado (158–500 μm), que empieza a cambiar de forma de almeja a la forma característica del mejillón. Una vez éste ha adoptado su forma típica y ha empezado a desarrollar por completo su aparato de alimentación, que puede ser menos de 1 mm se le conoce como juvenil (500–5000 μm). Un aumento en el tamaño y desarrollo conlleva a la madurez sexual, que puede ser de un tamaño muy pequeño (5 mm) y continúa su crecimiento generalmente hasta los 50 mm.

La tasa de crecimiento de los estadíos larvales en la naturaleza es altamente variable, dependiendo principalmente de la temperatura y el contenido de clorofila. La relación entre edad y crecimiento de los mejillones varía considerablemente dependiendo del método utilizado para la determinación de la edad. Los mejillones cebrá que habitan en aguas de altas temperaturas ($>17\text{ }^{\circ}\text{C}$) presentan un periodo de vida de máximo un año, a diferencia de aquellos que viven en temperaturas menores, cuyo ciclo de vida se puede extender hasta tres años (Mackie, 1996).

2.1.2. Familia Mytilidae.

Dentro del gran grupo de bivalvos se encuentra también la superfamilia Mytiloidea, de la cual se desprende la familia Mytilidae la cual se caracteriza por presentar una concha en forma de cuña, equivalva, inequilateral. Su interior es nacarado y su biso está bien desarrollado y los dientes de la charnela reducidos (Díaz y Puyana, 1994). La familia Mytilidae posee en todas las latitudes especies de gran importancia comercial con alta demanda como alimento. El Caribe y el océano Atlántico está representado por *Perna perna* y *P. viridis* (García-L et al., 2005). El género *Perna* se

distingue de los demás por su concha lisa (exceptuando las líneas concéntricas de crecimiento) y la carencia de músculo aductor anterior (excepto juveniles).

La especie *Perna viridis*, conocida vulgarmente como mejillón verde, es originaria del Indo-Pacífico y se dispersó desde Trinidad hasta las costas de Venezuela en 1992 (Villafranca y Jiménez, 2006). Presenta una amplia distribución, abarcando latitudinalmente desde Japón a Nueva Guinea y longitudinalmente desde el Golfo Pérsico hasta las islas del Pacífico Sur (Lee, 1986).



Figura 2. Mejillón verde, *Perna viridis*, longitud anteroposterior 35 mm. Imagen de I. Calderón (2009)

Esta especie se caracteriza por el margen ventral cóncavo de la concha, el color verde iridiscente en el periostraco, e interiormente un tono nacarado. Este bivalvo habita en la zona intermareal y sublitoral. El mejillón verde alcanza una talla de 10 cm, sin embargo, en zonas con abundante alimentación crecen hasta 16 cm, su ciclo de vida es de tres años (Power *et al.*, 2004). Es una especie dioica que madura sexualmente cuando alcanza una longitud de 15 a 30 mm (dos a tres meses de edad). Su fertilización es externa, una vez los huevos son fertilizados, desarrollan una larva velígera trascurridas aproximadamente 16 h, ésta permanece nadando libremente

ISABEL CRISTINA CALDERÓN A. 12

en el plancton de 15 a 20 días previos a la fijación (Chee, *et al.*, 2002; Malave y Prieto, 2005).

En los estadíos larvales la condición más importante para un óptimo desarrollo es la alimentación, de ésta depende en gran parte el tamaño alcanzado por los individuos. La temperatura es otro factor que determina su crecimiento, aunque son capaces de tolerar amplios rangos, se registra que para algunas especies de mejillón como *Mytilus galloprovincialis*, el rango ideal está entre los 20 y 25 °C, puesto que a 30 °C los individuos no sobreviven. A diferencia de las otras dos condiciones, la salinidad no genera ningún efecto significativo, como se ha expresado anteriormente, los mejillones toleran amplios rangos de dicho factor (His *et al.*, 1989).

2.2. MEDIDAS DE CONTROL APLICADAS POST-INTRODUCCIÓN

La estructura y biodiversidad de un ecosistema se ve afectado por la introducción de nuevos competidores, parásitos y enfermedades. Dichas introducciones conllevan grandes alteraciones en las interacciones entre especies y cambios drásticos en los ciclos de nutrientes y flujo de energía, lo que resulta en una cascada de efectos impredecibles en las comunidades. Hasta la fecha no existe un marco legal encargado de la erradicación de especies marinas introducidas, o la prevención de una posible dispersión de éstas. Por más de 50 años se han realizado esfuerzos para combatir algunas especies en áreas específicas, como la adhesión de especies incrustantes en tuberías, sin embargo, dichos esfuerzos resultan ser medidas inmediatas pero no están diseñados para su erradicación (Carlton, 2001).

A continuación se exponen las estrategias para el control post-invasión de las especies marinas introducidas:

A. Control mecánico.

Remoción mecánica de los individuos (puede incluir la cosecha o el aprovechamiento de las especies introducidas), o destrucción mecánica *in situ* de los individuos. Dentro del control físico o mecánico se incluyen la recolección manual o mecánica, raspado realizado por buzos, filtros y tamices en las tuberías de agua, tratamientos de temperatura (choques térmicos), manipulación de la salinidad, desecación, privación de oxígeno, corriente eléctrica, luz ultravioleta y corrientes de agua a presión (McEnnulty *et al.*, 2001).

B. Control químico.

Se basa en la adición de algún compuesto tóxico, e incluye el desarrollo de químicos especie-específicos. Los impactos de éste método se deben extender más allá de las áreas de tratamiento, a menos que el químico empleado sea de corta duración (Carlton, 2001).

A pesar de generar daños en el entorno, el control químico es el más empleado, sin embargo, su eficiencia es menor ya que al detectar sustancias tóxicas en el ambiente, los bivalvos cierran sus valvas como mecanismo de protección. Comúnmente se emplea cloro como sustancia química para el control de bivalvos incrustantes, aunque también han sido utilizados sulfato de cobre, potasio, cloramidas, dióxido de cloro, ozono, peróxido de hidrógeno, permanganato, ajustes de pH, molusquicidas orgánicos y sintéticos, y sales inorgánicas como cloruro de potasio (KCl) (Aldridge *et al.*, 2006). Referente al sulfato de cobre, sus principales desventajas son su rápida absorción por la tierra y materia orgánica, su inefectivo alto pH y su toxicidad para muchas especies que no son catalogadas como plagas. A pesar del desarrollo de numerosas técnicas de control, la cloración es aún la más difundida y aprobada internacionalmente (McEnnulty *et al.*, 2001).

Recientemente se desarrolló una nueva tecnología de control conocida como biobalas. Esta se basa en la micro-encapsulación de un ingrediente activo, que resulte tóxico para los mejillones, dentro de micro-partículas comestibles (Aldridge *et al.*, 2006) y ha sido de gran interés en la industria de suministro de agua del Reino Unido, para el control de bivalvos incrustantes como el mejillón cebra en las tuberías. Cuenta con la aprobación de la “Inspección de Agua Potable”, sección del “Departamento del Medio Ambiente, Alimentación y Asuntos Rurales” (DEFRA), encargado de regular las empresas de suministro público de agua en Inglaterra y País de Gales.

C. Control genético.

Ingeniería genética en especies introducidas con el fin de alterar su tolerancia a diferentes condiciones ambientales, reproducción, alimentación, locomoción y otros procesos (Carlton, 2001).

D. Control ecológico a través de la modificación del hábitat (manipulación ambiental).

El ambiente es modificado en algunos aspectos físicos y químicos para evitar el daño generado por las especies invasoras o el aumento de especies naturales o introducidas para control biológico (Carlton, 2001).

E. Control ecológico a través de la introducción o aumento de algunas especies (biocontrol).

Este método tiene el potencial de extenderse más allá del área tratada. Las taxas nativas o no nativas incluyen hospedero-específico:

- I. parásitos y castradores parasíticos;
- II. parasitoides;
- III. patógenos;
- IV. predadores.

Los castradores parasíticos son usados con mayor frecuencia en los sistemas marinos que los parasitoides. En ambos casos el potencial reproductivo de las especies hospederas es nulo. Sin embargo, el hospedero castrado continúa presentando competencia intraespecífica contra individuos sanos, así como también continúa siendo una peste. A diferencia de los parasitoides, los castradores parasíticos se caracterizan por su inhabilidad para atacar más de un hospedero y su limitada capacidad para buscar parcelas de éstos últimos. Algunos estudios sustentan que los castradores parasitarios son capaces de controlar poblaciones hospederas, a diferencia de los parasitoides. Otro agente de control efectivo son algunos predadores y competidores en el caso de caracoles de agua dulce (Lafferty; Kuris, 1996).

3. ESTADO DEL ARTE

3.1. IMPACTO DE LA PRESENCIA DE MEJILLÓN EN PISCINAS DE ACUACULTURA

A raíz del fuerte impacto económico, alrededor de US \$9 000 ha⁻¹ año⁻¹, que ha generado la infestación del mejillón incrustante *Mytilopsis trautwineana* en la finca camaronera C.I. CARTAGENERA DE ACUACULTURA S.A., ubicada en la costa Caribe de Colombia, Aldridge *et al.* (2008) realizaron un estudio donde establecen que la respuesta del camarón frente al impacto del mejillón puede ser explicada a través de una interacción dependiente de la densidad. Es decir, una baja densidad de mejillones filtradores en las piscinas tiene un efecto positivo en la acuicultura debido a que remueven las partículas de materia suspendida. Sin embargo, en altas densidades los mejillones reducen la sobrevivencia de los camarones de $76,0 \pm 2,1$ % a $61,2 \pm 2,3$ %. Entre los efectos negativos que genera la presencia de mejillón sobre el camarón se encuentran el desplazamiento del fondo rico en alimento. Su alta capacidad filtradora genera la clarificación del agua lo cual implica un aumento en la predación por parte de aves, menor productividad natural en las piscinas (fitoplancton y zooplancton) que sirve como alimento complementario a los camarones, y un mayor nivel de estrés en los animales debido a que la gran mayoría de individuos tiende a congregarse en la parte más profunda de las piscinas. Adicionalmente, los camarones responden a dicha clarificación reduciendo su pigmentación, lo cual disminuye su valor comercial. Sumado a esto, los mejillones se adhieren a las estructuras de aireación, afectando significativamente la capacidad de mantener favorables los niveles de oxígeno disuelto.

3.2. CONTROL QUÍMICO

Aldridge *et al.* (2006) introducen la tecnología de las biobalas, esta técnica de control químico, enfocada en *D. polymorpha*, fue desarrollada partiendo del

concepto de filtración de los mejillones. Las biobalas consisten en la encapsulación de una toxina, como cloruro de potasio (KCl) o sulfato de cobre (CuSO_4), en micro partículas de material comestible. Al no detectar el ingrediente activo directamente en el agua, los bivalvos no cierran sus valvas y al filtrar las biobalas acumulan la toxina dentro de su organismo. Los alcances en la elaboración de las biobalas permiten que éstas se disuelvan completamente en pocas horas, eliminando el riesgo de contaminar todo el ecosistema. Su uso disminuye en gran medida los volúmenes de toxinas comúnmente empleadas, como el hipoclorito de sodio, requeridos para un resultado efectivo. Así mismo, permite la utilización de sustancias químicas antes prohibidas para el control de mejillón.

A través de ensayos experimentales Cataldo *et al.* (2002), probaron la toxicidad de cuatro molusquicidas; cloro como producto oxidante, Clamtrol CT2, H130M y Bayluscide WP70 a diferentes concentraciones sobre el mejillón incrustante *Limnoperna fortunei*. El experimento se realizó por triplicado a tres diferentes temperaturas; 15, 20 y 25 °C. Con el cloro se efectuó una exposición permanente durante 11 a 47 días, a diferencia de los demás agentes no oxidantes, donde la exposición a la sustancia fue de 2 días y post-exposiciones de entre 1 y 12 días. Realizadas las pruebas se concluyó que a una misma temperatura, la mortalidad para los tóxicos aumentaba dependiendo de su concentración. También se comprobó que la toxicidad de cada concentración fue máxima a 25 °C, intermedia a 20 °C y mínima a 15 °C. En aplicaciones breves con cloro no afectan a los moluscos. En aplicaciones industriales razonables, desde el punto de vista ambiental y económico, es decir hasta unas 5 ppm, a 15 °C se requiere más de un mes para matar a la mitad de los mejillones expuestos, este tiempo se reduce a la mitad a 20 °C y finalmente solo a 10 días a 25 °C.

Masilamoni *et al.* (2002) estudiaron los patrones de mortalidad, y las respuestas fisiológicas como consumo de oxígeno, tasa de filtración, producción de filamentos

del biso y producción de materia fecal en tres grupos de tallas de mejillones *P. viridis* en diferentes concentraciones de cloración. En una concentración de 0,7 mg/L de cloro residual, el grupo de mejillones entre 3-4 cm presentó una mortalidad del 100 % en 553,3 h, mientras que aquellos entre 8-9 cm murieron pasadas 588 h. A una concentración relativamente alta de cloro residual (9,1 mg/L), se presentó una mortalidad total entre los grupos de 3-4 cm y 8-9 cm al cabo de 94 y 114 h, respectivamente. Todas las actividades fisiológicas mostraron una progresiva reducción mientras la concentración de cloro residual aumentaba de 0 a 0,55 mg/L. La información registrada indica que el mejillón verde es capaz de detectar niveles de cloro residual < 0,15 mg/L, y el cierre completo de sus valvas se registró únicamente a una concentración de 0,55 mg/L.

Estudios realizados han demostrado que una continua exposición a concentraciones de cloro entre 1,5-2,0 ppm durante 60 horas matan y remueven individuos adultos de la especie *M. sallei*, por el contrario, *D. polymorpha* es menos resistente a esta sustancia, requiriendo como mínimo una concentración de 1 ppm en individuos adultos, esto dependiendo del tiempo de exposición y la temperatura del agua.

El sulfato de cobre (CuSO_4) es un efectivo biocida utilizado rutinariamente en acuicultura para matar caracoles que hospedan esquistosomiasis y así proteger la salud humana. *Mytilopsis sallei* es más resistente al cobre que las ostras *Crassostrea gigas* y *C. virginica*, con valores de DL50 de 0,6 mg/L para cuatro días, 1, 9 mg/L para cuatro días, 0,103 mg/L para dos días (embriones) y 0,104-1,0 mg/L para dos y siete días respectivamente. La toxicidad relativa de los metales pesados para *M. sallei* basada en valores DL50 en 96 horas son cobre (0,6 mg/L), cadmio (0,71 mg/L) y zinc (8,63 mg/L) (McEnnulty *et al.*, 2001).

Lee *et al.* (1993) realizaron bioensayos comprobando la efectividad de las lemmatoxinas, molusquicidas de la planta africana endod (*Phytolacca dodecandra*) en el control del mejillón cebra. En una dosis mayor a 15 mg/L, el endod es letal para

los individuos adultos de esta especie, mientras que en dosis menores se previene su adhesión y agregación. Las lemmatoxinas deben estar en las proporciones adecuadas para obtener un resultado deseado, lo que requeriría grandes cantidades para extensas masas de agua. Se sugiere el uso de dicha planta en combinación con técnicas mecánicas y químicas para lograr así remover los mejillones adultos y prevenir su agregación.

Martin *et al.* (1993) trabajaron en el control de la especie *D. polymorpha* con hipoclorito de sodio, amonio policuaternario y compuestos de benzothiazole. Para el experimento emplearon individuos adultos entre los 2-8 mm colectados en el lago St. Clair, estos fueron expuestos a diferentes concentraciones de las sustancias tóxicas anteriormente mencionadas. El hipoclorito de sodio resultó ser un efectivo biocida en concentraciones superiores a 1,00 mg/L, generando una mortalidad total tras un periodo de 157 y 264 h en concentraciones de 5,00 y 2,50 mg/L, respectivamente. Los otros compuestos resultaron en un 100 % de mortalidad en distintos periodos de tiempo. La concentración del biocida afectó significativamente el tiempo de muerte para los tres compuestos puestos a prueba.

Existe un gran número de compuestos destinados al control del mejillón cebra (*D. polymorpha*), sin embargo son escasos los registros de comparación entre la toxicidad de cada uno de éstos, así como también la identificación de sus efectos en organismos que no sean de interés de control. Waller *et al.* (1993) compararon la toxicidad de 18 compuestos químicos en dos tallas distintas de mejillón cebra, así como en organismos no objetivo de control, como la trucha arcoiris, *Oncorhynchus mykiss*, y el bagre de canal, *Ictalurus punctatus*, y una especie de mejillón perteneciente a la familia Unionidae (*Obliquaria reflexa*). Los organismos fueron expuestos a los químicos durante 48 h bajo condiciones estándar (pH 7,7, alcalinidad 30 mg/L y dureza total 40 mg/L como CaCO₃) a 17 °C, finalizado el tiempo, únicamente los mejillones cebra y los unionidos fueron introducidos otras 48 h en

agua sin condiciones establecidas para observar mortalidad tardía. Al comparar la concentración letal de cada uno de los químicos en los diferentes organismos, determinaron que el cloruro de potasio, Bayluscide® (molusquicida) y el Clamtrol CT (compuesto de amonio policuaturnario) fueron los más selectivos para el control del mejillón cebra, siendo dos o tres veces más tóxicos para éstos que para los demás organismos. Sin embargo, el Clamtrol CT-1 ofrece algunas ventajas sobre el Bayluscide® al mostrar una mayor selectividad en mejillones cebra particularmente sobre unionidos y su efectividad a una concentración de 1 mg/L. Los demás químicos carecían de la toxicidad requerida, o lo eran más para el resto de organismos que para el mejillón cebra.

Kramer *et al.* (1989) evaluaron la calidad del ambiente acuático a través del movimiento de las valvas del mejillón de agua dulce, *Dreissena polymorpha*, y el marino, *Mytilus edulis*. Está claro que los mejillones permanecen abiertos la mayoría del tiempo y se cierran por cortos periodos, el lapso que transcurre entre ambos procesos varía dependiendo de la especie. Tras realizar diferentes pruebas con algunas sustancias tóxicas como cloro y cobre, los autores lograron determinar los tiempos de cerrado de ambas especies. Comprobaron que al adicionar 37,5 µg/L de sulfato de cobre (CuSO₄), *M. edulis* cierra sus valvas en cuestión de minutos, sin embargo al adicionar una concentración de 20 µg/L Cu la respuesta de cerrado se retrasa y se hace menos evidente. Concentraciones menores de dicho compuesto se hacen más difíciles de detectar ya que los mejillones no se cierran completamente sino que simplemente reducen su máximo rango de apertura. En el caso de *D. polymorpha* se probó con hipoclorito y reportaron que niveles constantes de la sustancia generan un aumento en el tiempo en que las valvas permanecen cerradas, observándose periodos intermitentes de actividad, la duración de éstos decrece a medida que aumenta la concentración de hipoclorito, a una concentración de 500 µg/L no se registra ninguna actividad.

Brown y Newell (1972) analizaron el efecto del cobre y zinc en el metabolismo del mejillón *Mytilus edulis*. Para llevar a cabo tal objetivo trabajaron con organismos intactos, sus tejidos aislados y preparaciones homogenizadas de branquias, aparato digestivo y gónadas. Comprobaron que concentraciones de 250 y 500 ppm de cobre citrato de sodio tienen un efecto inhibitorio en los cilios branquiales, lo cual está directamente asociado con una baja en el metabolismo tanto en mejillones intactos como en las preparaciones de tejidos ciliados, a diferencia de los no ciliados como la glándula digestiva. Por otro lado el zinc citrato de sodio no tiene algún efecto significativo en el metabolismo tanto en branquias como en la glándula digestiva. En las preparaciones homogenizadas no se registró disminución en su respiración. Con estos resultados los autores sugieren que el descenso metabólico registrado se debe a la inhibición de la actividad ciliar (proceso de consumo de energía), en vez de un efecto directo del metal sobre las enzimas respiratorias.

3.3. TECNICAS DE PREVENCIÓN Y MANEJO DE ESPECIES INVASORAS

En busca de que todos los países tengan conocimiento de las especies invasoras que habitan sus aguas, Campbell *et al.* (2007) describieron los cinco métodos comúnmente empleados para su detección, entre estos están los protocolos de Hewitt y Martin, museo Bishop y muestreo pasivo, como también investigaciones de asentamiento rápido y de la acuicultura chilena. Estos procedimientos utilizan técnicas cualitativas, cuantitativas o una mezcla de ambas y tienden a ubicar lugares propensos a infestaciones tales como puertos, marinas y fincas de acuicultura. A la fecha estos métodos se han implementado en 19 países y han detectado más de 1 185 especies exóticas, 735 criptogénicas y 15 315 nativas.

Hewitt y Campbell (2007) hacen una revisión de las diferentes estrategias de bioseguridad marina y la legislación que se ha implementado a nivel nacional e internacional enfocada en prevenir y manejar especies marinas no nativas, con énfasis en Australia y Nueva Zelanda. Las herramientas típicas utilizadas incluyen

cuarentena, estándares de salud importados, limpieza voluntaria y riesgos de asentamiento, todo esto dirigido a la prevención de posibles introducciones.

El departamento de Vermont de Conservación Ambiental, en cooperación con el “Lake Champlain Basin Program” ha monitoreado las densidades del mejillón *Dreissena polymorpha* en el Lago Champlain desde 1994. Para determinar la ocurrencia y densidad de mejillones fijados, se ubicaron 13 estaciones cerca de la orilla y se emplearon estructuras de fijación construidas en platos de PVC de color oscuro. Para la caracterización de la densidad de los mejillones cebra adultos, se hicieron muestreos con snorkel. Se determinó también la ocurrencia y densidad de larvas velígera en diferentes sitios de muestreo, algunos ubicados dentro del lago y otros cerca de la orilla. Los resultados indican que la densidad de velígeras incrementó en 12 de las 16 estaciones muestreadas y la adhesión de individuos adultos incrementó o permaneció igual en tres de cuatro estaciones, comparado con las densidades encontradas en el 2002 (Stangel, 2004).

4. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

El presente estudio se desarrolló en la empresa camaronera C.I. OCEANOS S.A., entre diciembre de 2008 y octubre de 2009. Esta se ha caracterizado por mantener su liderazgo en el gremio camaronicultor con una producción en el 2008 que supera las 10 000 toneladas y ventas mayores a los US \$45 000 000, sin embargo, durante los últimos años ésta se ha visto afectada por la presencia de las especies de mejillón incrustante *Mytilopsis trautwineana* y *Perna viridis*, comprometiendo la rentabilidad del negocio. En la actualidad no se ha logrado establecer con exactitud si la infestación de ambas especies en las piscinas ocurre una sola vez durante el ciclo de cosecha, específicamente en la fase de llenado, o por el contrario, se presenta continuamente. Esta es la razón por la cual los mecanismos ya empleados para su manejo no resultan suficientes en la regulación de las poblaciones. A raíz de esto, el presente trabajo se centra en el estudio de medidas de control químico, aplicables tanto si la infestación ocurre únicamente durante el llenado, o en su defecto, mediante repeticiones si ésta se da varias veces durante el ciclo. Hasta la fecha los estudios enfocados a esta problemática son casi nulos y aunque existen registros del control químico del mejillón, éstos no están dirigidos a cultivos de camarón. Los compuestos tóxicos a evaluar incluyen; biobalas de sulfato de cobre (CuSO_4) al 20 y 30 % y amina cuaternaria (DB45), como también sulfato de cobre libre e hipoclorito de calcio.

5. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Comprobar si la colonización de *M. trautwineana* y *P. viridis* en las piscinas monitoreadas de la finca C.I. OCEANOS S.A. se presenta como un evento único o en ciclos diferentes de ingreso.
- Determinar el periodo de tiempo en el que ocurre el asentamiento de la larva de mejillón una vez sembrada la piscina, mediante el empleo de cuerdas de fijación.
- Identificar la dosis letal 50 (DL50) de las biobalas de sulfato de cobre (CuSO_4) al 20 y 30 %, amina cuaternaria al 20 % (DB45), sulfato de cobre libre e hipoclorito de calcio en las especies de mejillón *M. trautwineana* y *P. viridis*.
- Evaluar el efecto de la presencia del mejillón sobre la productividad (Kg/Ha/día) y sobrevivencia de las piscinas de cultivo de *Litopenaeus vannamei*.

6. HIPÓTESIS

- Los ciclos de infestación de las especies *M. trautwineana* y *P. viridis* se dan únicamente durante la fase de llenado de la piscina.
- El uso de biobalas de sulfato de cobre al 20 y 30%, amina cuaternaria (DB45) así como el sulfato de cobre libre e hipoclorito de calcio como control químico de poblaciones de *M. trautwineana* y *P. viridis* funcionan favorablemente.
- El tiempo aproximado de asentamiento de una larva de mejillón una vez haya sido sembrada la piscina es de aproximadamente 20 días.
- Hay una disminución en la productividad (Kg/Ha/día) y en la sobrevivencia de *L. vannamei* en las piscinas monitoreadas de la finca con presencia de las especies de mejillón *M. trautwineana* y *P. viridis*.

7. VARIABLES-INDICADORES

Tabla 1. Variables dependientes, independientes e indicadores

VARIABLES INDEPENDIENTES	INDICADORES
Variables físico-químicas	Temperatura
	Salinidad
	Oxígeno disuelto
	Alcalinidad de carbonatos
	Turbidez
	Amonio
Variables biológicas	Conteo de organismos fitoplanctónicos
	Número de mejillones adheridos en las cuerdas
	Peso del camarón
	Biomasa de la piscina
Medidas de control químico empleadas	Concentración del compuesto activo
VARIABLES DEPENDIENTES	INDICADORES
Sobrevivencia del mejillón y del camarón en los acuarios experimentales.	Porcentaje de sobrevivencia
Sobrevivencia de <i>L. vannamei</i> en las piscinas con mejillón.	Porcentaje de sobrevivencia
Kg/Ha cosechados de <i>L. vannamei</i> en las piscinas con mejillón	Productividad del cultivo
Productividad primaria de las piscinas de <i>L. vannamei</i> infestadas con mejillón	Conteos de fitoplancton

8. METODOLOGÍA

8.1. AREA DE ESTUDIO

Dentro del Caribe colombiano se encuentra la subregión del Canal del Dique la cual está conformada por 19 municipios, de los cuales 11 hacen parte del departamento de Bolívar (Aguilera, 2006). Tiene una longitud total de 114 Km que van desde el río Magdalena en la población de Calamar hasta la Bahía de Cartagena (Restrepo y Kjerfve, 2000).

El clima que predomina en el área es seco tropical-semiárido, con humedad y temperaturas altas durante todo el año gracias a su posición con respecto a la línea del Ecuador, las variaciones latitudinales, el efecto de los vientos alisios del norte y nordeste, la proximidad al mar y la localización de sistemas montañosos así como también de colinas. La temperatura ambiental media es de 27,6 °C, con máximas de 32,9 °C y mínimas de 23,1 °C, siendo junio el mes más caluroso y enero el de menor temperatura. El régimen de precipitación anual varía entre los 800 mm a los 2 000 mm y media anual de 1 200 mm. El periodo máximo de lluvias se presenta durante los meses de septiembre y octubre con promedios mensuales de 111 y 128 mm, respectivamente, mientras que el período seco va de diciembre a marzo, con precipitaciones promedio mensuales menores a 5 mm. La evaporación es igual o en muchas ocasiones mayor a la precipitación, lo cual origina un déficit hídrico en la zona durante la mayor parte del año. La humedad relativa es alta, presentándose un promedio del 82 %, con máxima del 92 % y mínima del 70 %. Durante los meses secos la humedad varía entre el 50 % de día y el 98 % de noche, y en los meses de lluvia varía entre el 70 y 79 % (Aguilera, 2006).

El Canal del Dique está dividido en tres sectores de acuerdo a sus características fisiográficas, hidrológicas y topográficas; alto, medio y bajo Canal del Dique. Este último se caracteriza por una notoria intrusión salina, favoreciendo así la presencia de bosques de manglar y de piscinas de empresas camaroneras (Aguilera, 2006).

La finca camaronera C.I. OCEANOS S.A., se encuentra localizada en la ciudad de Cartagena de Indias y hace parte de la subregión del Canal del Dique (Figura 3). Está dividida en tres grandes zonas que son Colacua, Camcar y Reforestadora, cada una con su propia fuente de agua Su ubicación global está entre los 10°08' latitud norte y los 75°32' longitud oeste. Su extensión total es de 1 784 Ha, donde 1 052 Ha netas son espejos de agua, distribuidas en 148 piscinas en operación. Limita al norte con la Ciénaga de Guaranao, al noreste con el Canal del Dique, al noroeste con Acuipisca Ltda., al sur con el Caño del Gobierno y al este con la Ciénaga de Descocotados (Sánchez, 2004).



Figura 3. Finca camaronera C.I. OCEANOS S.A. Tomado de Google Earth™ 2008.

8.2. FASE DE CAMPO

8.2.1. Sistema de monitoreo de *M. trautwineana* y *P. viridis*.

Se realizó un seguimiento de las poblaciones de mejillón durante un ciclo de cultivo, es decir 110 días aproximadamente, éste se llevó a cabo en dos puntos del reservorio, así como también en 7 piscinas seleccionadas aleatoriamente en el momento de la siembra. En cada una de las piscinas se establecieron dos estaciones de muestreo ubicadas de la siguiente manera; una cerca de la estructura de entrada y la segunda cerca de la estructura de salida (Figura 4). Las técnicas de monitoreo fueron establecidas para estadíos larvales y mejillones ya fijados como adultos.

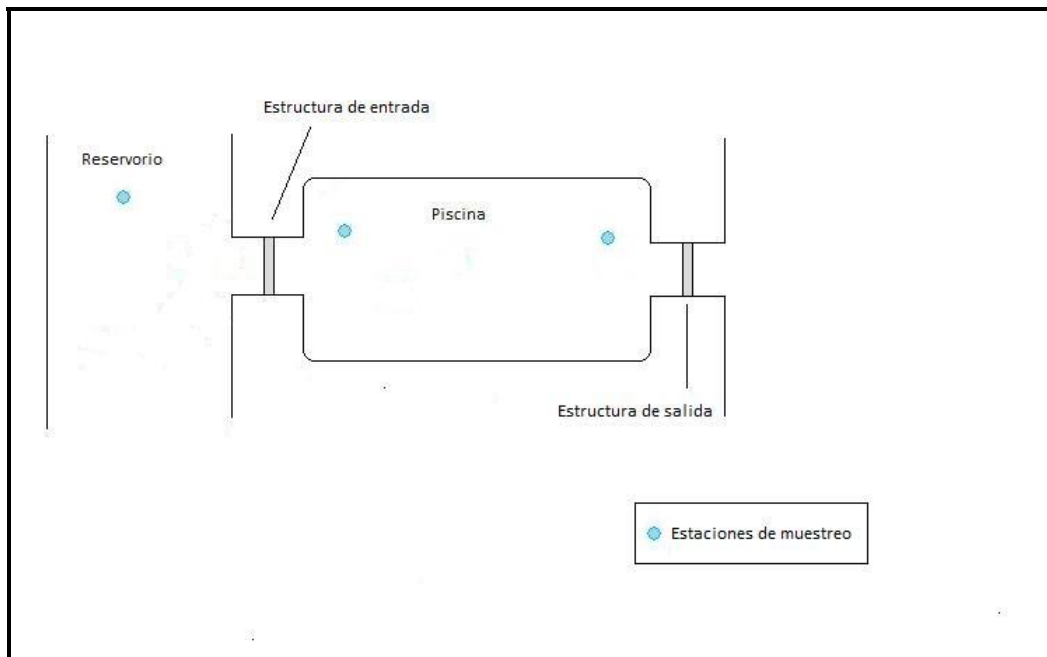


Figura 4. Estaciones de muestreo para monitoreo de *M. trautwineana* y *P. viridis*, ubicadas cerca de las estructuras de entrada y salida, como también en el canal reservorio.

Estadíos larvales.

Se tomaron muestras de 10 L de agua en las estaciones mencionadas. Cada una de éstas se filtró con una malla de 20 μm y se extrajo una muestra de 50 ml, ésta fue envasada en una botella plástica y llevada a al laboratorio de la finca, donde se analizó con microscopia de contraste de fases.

Estadíos adultos.

Los animales en estadio adulto fueron muestreados mediante la implementación de la técnica basada en las estaciones de monitoreo del mejillón cebra, *D. polymorpha*, (Stangel, 2004). En cada piscina se ubicaron dos cuerdas de fijación o colector, cada uno de éstos consiste en 2,5 m de cuerda de ½ pulgada, una boya y un lastre para mantener la estructura tensada. Para su elaboración se utilizó 1 m de cuerda dividida en cinco segmentos de 20 cm, los cuales se insertaron dentro de los 1,5 m restantes en intervalos de 20 cm, una vez fijados se deshilacharon con la finalidad de generar una mayor área de fijación para las larvas (Figura 5).

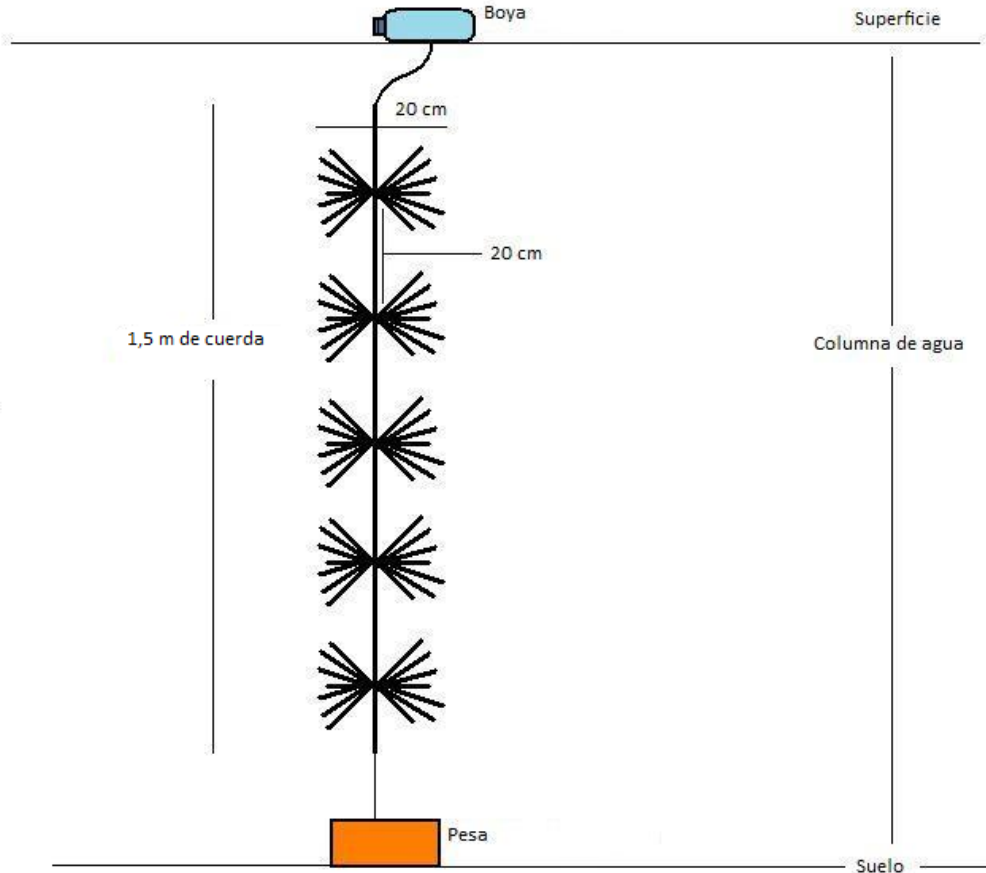


Figura 5. Cuerda de fijación o colector empleado para la adhesión de mejillón. Para su elaboración se empleó 2,5 m de cuerda de ½ pulgada, una boya (botella plástica) y una pesa (ladrillo). La estructura abarca toda la columna de agua verticalmente.

Las piscinas y canales reservorios se monitorearon aproximadamente cada 15 días. En cada muestreo se retiró la cuerda y se contó el número total de mejillones en uno de los cinco segmentos de 20 cm, el cual fue elegido aleatoriamente la primera vez y se mantuvo a lo largo del ciclo. Adicionalmente se midió la longitud máxima de todos los animales encontrados en dicho segmento. Este último se limpiaba completamente una vez realizada la toma de datos, para ser nuevamente ubicado en la estación de muestreo, pudiendo así evaluar el crecimiento entre muestreos.

8.2.2. Variables físico-químicas.

El proyecto tomo como referencia las variables físico-químicas de los archivos existentes de la camaronera y que fueron a su vez suministrados por el personal técnico de la finca. Dentro del proyecto se incluyeron las mediciones rutinarias que se llevan a cabo en la finca tales como temperatura, salinidad, oxígeno disuelto, turbidez, alcalinidad de carbonatos y amonio.

Estas mediciones se efectúan diariamente por el personal cerca de la estructura de salida de cada una de las piscinas y en puntos específicos del canal reservorio. En el caso de la temperatura y el oxígeno disuelto se empleó el valor medio de las mediciones realizadas en la superficie y el fondo en la mañana y en la tarde. Para las variables alcalinidad de carbonatos y amonio, se recolectaron muestras de agua en una botella plástica y se transportaron hasta el laboratorio de la finca donde se analizaron. La temperatura, oxígeno disuelto y salinidad se midieron a través de un multiparámetros marca YSI modelo 556 MPS. La turbidez se midió con un disco secchi.

8.2.3. Variables bióticas.

Adicionalmente se incluyeron los recuentos de fitoplancton realizados por el personal de laboratorio de finca, obtenidos de la base de datos existente en la camaronera. Esta variable se incluyó debido a que existe una relación directa entre

el número de organismos fitoplanctónicos y la presencia de mejillón (Durán *et al.*, 2007). Para esto se recolectaron 80 ml de muestra en la salida de la piscina.

8.2.4. Ensayos de control químico.

En este proyecto fueron desarrollados una serie de experimentos controlados, basados en pruebas de ensayo y error entre los meses de marzo y julio de 2009. A través de diferentes modificaciones en las metodologías a emplear, se estableció la dosis letal 50 (DL50) de biobalas de (CuSO_4 al 20 y 30 % al igual que amina cuaternaria al 20 %- DB45) así como de CuSO_4 libre.

El uso del CuSO_4 como control químico se estableció de acuerdo al resultado positivo de otras fincas camaroneras en el control de bivalvos, sumado a la bibliografía existente sobre el efecto del cobre en los mejillones. Las biobalas de sulfato de cobre al 20 % y amina cuaternaria al 20 % (DB45), formuladas experimentalmente a partir de observaciones realizadas en Colombia, fueron suministradas por el grupo del Dr. Aldridge, Departamento de Zoología, Universidad de Cambridge. El sulfato de cobre encapsulado al 30 % fue proporcionado por la empresa química cartagenera C.I. Industrias Químicas Real S.A.

Para cada uno de los tratamientos realizados, los mejillones fueron recolectados manualmente de las piscinas, almacenados en baldes plásticos con agua de la piscina de la cual fueron extraídos y transportados hasta la sala de ensayos de la finca.

8.2.5. Ensayos en piscinas.

En las piscinas la cantidad de CuSO_4 libre (pentahidratado) se calcula de acuerdo al 1 % de la alcalinidad total en el agua. Para la homogenización, el químico se divide en dos o tres partes iguales, a criterio de los supervisores de zona y operarios de piscina, dependiendo del área de ésta última, y se mezcla con agua de la misma en una chalana. Una vez lista la mezcla, dos operarios, con todas las medidas de

seguridad necesarias, son los encargados de distribuir el producto en toda el área, uno de ellos conduce la chalana mientras el otro agrega el CuSO_4 al boleó.

Para comprobar la efectividad del sulfato de cobre al 1 % de la alcalinidad en piscinas, se construyeron cajas de madera y malla, a las cuales se les amarró una cuerda con una boya para su fácil ubicación (Figura 6). Se seleccionaron 14 piscinas, entre intensivas y tradicionales, que fueran a ser tratadas, y se ubicaron dos cajas en cada una de éstas, cerca de las estructuras de entrada y salida. Estas se revisaban cinco días después del tratamiento y se contaban los individuos vivos y muertos, separándolos por especie.



Figura 6. Cajas fabricadas en madera y malla cuya finalidad es comprobar la efectividad del tratamiento con sulfato de cobre libre en la columna de agua. Estas son instaladas con mejillones dentro de las piscinas que vayan a recibir tratamiento, y revisadas cinco días después.

En cada caja se instalaron aproximadamente 200 mejillones, los cuales se obtuvieron manualmente de la misma piscina para evitar cambios en las condiciones fisicoquímicas (temperatura, salinidad, profundidad, oxígeno disuelto) y así prevenir un desove masivo en animales que estuvieran en un periodo de reproducción. Este

número variaba dependiendo de la población actual de la piscina, así mismo la relación entre la cantidad de animales por especie.

8.3. FASE DE LABORATORIO

8.3.1. Sistema de monitoreo de *M. trautwineana* y *P. viridis*.

Estadíos larvales.

La muestra, concentrada como se describió anteriormente, se fijó con 0,5 ml de lugol. Seguido a esto se extrajeron cuatro alícuotas de 1 ml, cada una de éstas se introdujo en una placa Sedgewick Rafter para su posterior análisis bajo el microscopio de contraste de fases. El número de animales en cada piscina se determinó de la siguiente forma:

$$\text{Cel/ml totales} * 0,015$$

Donde 0,015 corresponde al factor de la placa.

8.3.2. Ensayos de control químico.

A continuación se describen los ensayos realizados enfocados en el control químico de las especies de mejillón *M. trautwineana* y *P. viridis* (Figura 7). En cada caso se especifica el número total de acuarios, animales (mejillones o camarones), tratamientos, recambios de agua y método de dosificación del compuesto.

Para el llenado de los acuarios y los recambios diarios de agua, se utilizó un tanque de fibra de vidrio de 2 000 L previamente adecuado con agua del reservorio, fertilizado NKP y provisto de un sistema de aireación para obtener una proliferación de algas.

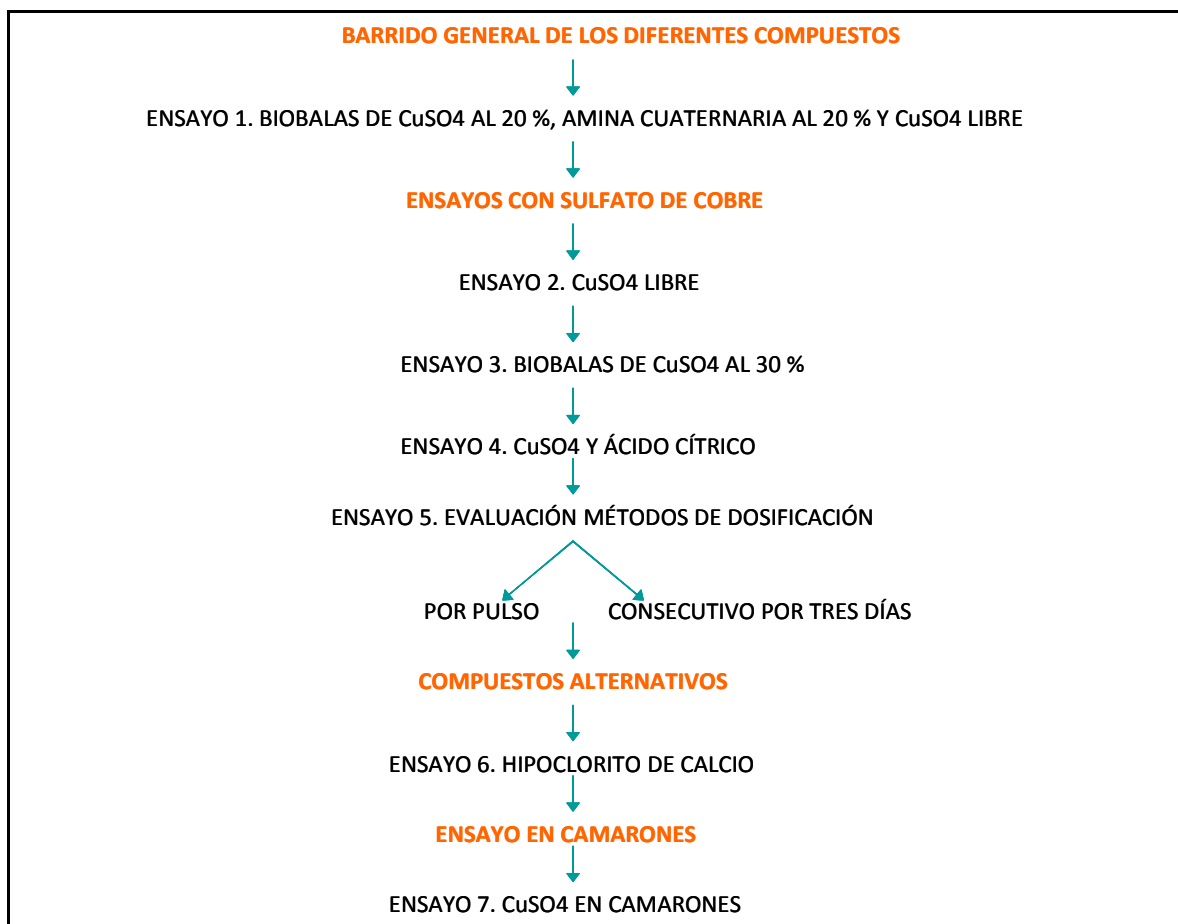


Figura 7. Diagrama de ensayos realizados en acuarios para el control químico de las especies de mejillón *M. trautwineana* y *P. viridis*.

Ensayo 1. Tratamiento con biobalas de sulfato de cobre al 20 %, amina cuaternaria al 20 % y sulfato de cobre libre.

Acuarios experimentales.

Se utilizaron un total de 43 acuarios, ubicados aleatoriamente en la sala de bioensayos de la finca, asignados de la siguiente manera; 18 para tratamiento con biobalas de sulfato de cobre (CuSO_4) al 20 %; 15 para tratamiento con biobalas de amina cuaternaria al 20 % (DB45); 15 para tratamiento de CuSO_4 libre y 3 controles. Estos se marcaron a una altura equivalente a 20 L, se llenaron con agua del tanque exterior y se les instaló un sistema de aireación. El amplio rango de concentraciones evaluado en los tres tratamientos permite establecer el rango donde se presentan los mejores resultados. En cada acuario se introdujeron 20 mejillones *P. viridis* y 10

mejillones *M. trautwineana* de $37,11 \pm 3,311$ mm y $21,65 \pm 1,205$ mm de longitud antero-posterior respectivamente. Los animales permanecieron en periodo de aclimatación durante tres días. El total de mejillones se estableció con la idea de tener una cifra estadísticamente significativa. El número de individuos de la especie *M. trautwineana* es menor, tratando de simular las condiciones de la finca donde *P. viridis* es más prevalente.

Recambios de agua.

Durante todo el bioensayo no se hicieron recambios de agua en los acuarios, lo anterior simulando las condiciones normales de una piscina.

Tratamientos.

- Biobalas de CuSO_4 al 20 %.

Se evaluaron seis concentraciones del compuesto; 0,05; 0,5; 2,5; 5; 50 y 500 ppm con tres réplicas cada uno.

- Biobalas de amina cuaternaria (DB45) al 20 %.

Fueron valoradas cinco concentraciones del compuesto; 0,5; 5; 50; 500 y 5000 ppm con tres réplicas cada uno.

- Sulfato de cobre libre.

Para este tratamiento se realizaron cinco concentraciones del compuesto 0,1; 0,5; 1; 10 y 100 ppm, con tres réplicas cada uno.

La dosificación en los tres tratamientos se realizó en dos pulsos, es decir, la cantidad final a adicionar por acuario se dividió en dos y fue suministrada en intervalos de 15 minutos, lo anterior con el fin de que las biobalas liberaran gradualmente su componente activo, acabando así con el mayor número de mejillones.

Ensayo 2. Tratamiento con sulfato de cobre libre.

Acuarios experimentales.

Fueron necesarios un total de quince acuarios, tres para cada una de las concentraciones evaluadas y tres controles. Estos se marcaron a las alturas equivalentes a 20 y 12 L con el fin de facilitar los recambios diarios de agua. Se utilizaron 20 mejillones *P. viridis* y 9 *M. trautwineana*. La talla promedio fue de $32,53 \pm 2,294$ mm y $19,33 \pm 1,952$ mm respectivamente.

Recambio de agua.

Se realizaron recambios diarios de agua del 40 % del volumen total.

Tratamiento.

Fueron evaluadas cuatro concentraciones (0,5; 1; 1,5 y 2 ppm) del compuesto sulfato de cobre libre, con tres réplicas cada una.

La aplicación del químico se realizó de manera consecutiva por tres días. El segundo y tercer día se tuvo en cuenta los recambios diarios de agua del 40 %, para así mantener una concentración constante del producto evaluado.

Día 1: concentración a evaluar (mg/L) * 20 L = X mg de CuSO_4 /1000 = X gr de CuSO_4

Día 2 y 3: X gr de CuSO_4 día 1 * 0,4 = X gr de CuSO_4

Ensayo 3. Tratamiento con biobalas de sulfato de cobre al 30 %.

Acuarios experimentales.

Para este experimento se utilizaron 12 acuarios, tres para cada una de las concentraciones evaluadas y tres controles. Se utilizaron 20 mejillones *P. viridis* y 10 *M. trautwineana*. La talla promedio fue de $32,57 \pm 2,128$ mm en *P. viridis* y $21,3 \pm 0,3121$ mm en *M. trautwineana*.

Recambios de agua.

Se realizaron recambios diarios de agua del 40 % del volumen total.

Tratamiento.

Se trabajó con tres concentraciones de biobalas 1; 1,5; y 2 ppm, con tres réplicas cada una. La dosificación se realizó por tres días consecutivos.

Ensayo 4. Tratamiento con sulfato de cobre libre y ácido cítrico.

Acuarios experimentales.

Para la realización del experimento fueron requeridos un total de 12 acuarios, éstos fueron distribuidos de la siguiente manera; 3 para CuSO₄ libre, 6 para las relaciones ácido cítrico: sulfato de cobre evaluadas y tres controles. La cantidad de CuSO₄ utilizada corresponde al 1 % de la alcalinidad total del agua del reservorio, en este caso 1,08 ppm, esto debido a que dicha variable y el pH son las que regulan principalmente el curso del cobre una vez es aplicado en la superficie (Van Hullebusch *et al.*, 2002). Se utilizaron 20 mejillones *P. viridis* y 10 *M. trautwineana*. La talla promedio de *M. trautwineana* fue de $20,19 \pm 1,914$ mm y la de *P. viridis* fue de $31,86 \pm 3,413$ mm.

Recambios de agua.

Recambios diarios del 40 % del volumen total de agua.

Tratamientos.

- Sulfato de cobre libre.

La concentración de CuSO₄ libre se determinó calculando 1 % de la alcalinidad total del agua del reservorio (110 mg/L).

$$\text{Día 1: } 1,10 \text{ mg/L} * 20 \text{ L} = 22 \text{ mg} = 0,022 \text{ g}$$

$$\text{Día 2 y 3: } 0,022 \text{ g} * 0,4 = 0,0088 \text{ g}$$

- Relación ácido cítrico: sulfato de cobre libre.

Las relaciones valoradas fueron 10:1 y 10:4, partiendo de las concentraciones de sulfato de cobre obtenidas.

Se realizó una aplicación de tres días teniendo en cuenta los recambios del 40 % del volumen total de agua.

Ensayo 5. Comparación de los métodos de dosificación por pulso y consecutiva por tres días en mejillones *M. trautwineana*.

Acuarios experimentales.

Se utilizaron un total de 16 acuarios, cinco para cada una de las metodologías a evaluar (dosificación por pulso y consecutiva por tres días) con sulfato de cobre libre al 1 % de la alcalinidad y seis controles, tres por cada uno de los anteriores. Se emplearon por acuario 20 mejillones de la especie *M. trautwineana* de $18,57 \pm 1,989$ mm, solo se utilizó esta especie ya que se ha comprobado que ésta es más resistente a los diferentes tratamientos.

Recambios de agua.

Para el primer tratamiento, dosificación por pulso, no se realizaron recambios de agua durante todo el ensayo, incluyendo los acuarios control. En el segundo tratamiento, dosificación consecutiva por tres días, se hicieron recambios del 40 % del volumen total, así como a sus respectivos controles.

Tratamientos.

- Sulfato de cobre al 1 % de la alcalinidad dosificado por pulsos.

La concentración de CuSO_4 utilizada corresponde al 1 % de la alcalinidad total del agua del reservorio (145 ppm), esta cantidad se dividió en dos y se agregó a los acuarios en lapsos de 15 min.

Cantidad total CuSO_4 : Día 1: $1,45 \text{ mg/L} * 20 \text{ L} = 0,029 \text{ g}$

Dosis: $0,029 \text{ g}/2 = 0,0145 \text{ g}$

- Sulfato de cobre al 1 % de la alcalinidad dosificado de manera consecutiva por tres días.

$$\text{Día 1: } 1,45 \text{ mg/L} * 20 \text{ L} = 0,029 \text{ g}$$

$$\text{Día 2 y 3: } 0,029 \text{ g} * 0,4 = 0,012 \text{ g}$$

Ensayo 6. Tratamiento con hipoclorito de calcio (HTH).

Acuarios experimentales.

Se utilizaron un total de 15 acuarios, tres por cada una de las cuatro concentraciones experimentadas y tres controles. En cada uno de los acuarios se instalaron 20 mejillones *P. viridis* de $33,71 \pm 2,283$ mm y 10 *M. trautwineana* de $20,71 \pm 2,053$ mm.

Recambios de agua.

Se realizaron recambios diarios del 40 %.

Tratamiento.

En el experimento fueron evaluadas cuatro concentraciones diferentes del compuesto (3, 5, 10 y 50 ppm), con tres réplicas cada una. La aplicación del químico se realizó de manera periódica durante cinco días.

Ensayo 7. Sulfato de cobre libre en camarón blanco, *Litopenaeus vannamei*.

Acuarios experimentales.

Fueron necesarios un total de 12 acuarios asignados de la siguiente manera; 3 para cada una de las cuatro concentraciones más tres controles. En cada uno de los acuarios se instalaron cinco camarones *L. vannamei* de 5 g de peso promedio. El número de animales se determinó mediante una relación entre la densidad de siembra en una piscina intensiva (50 camarones por m²) y el área de un acuario de 20 L (0,11 m²). Estos se aclimataron por un periodo de cinco días.

Los camarones se alimentaron diariamente con 1 g de alimento balanceado Nicovita 35 % proteína desde el inicio de la aclimatación. La cantidad de alimento se determinó multiplicando el número de camarones por acuario por la tasa de alimentación dada en gramos de alimento por camarón por día (GCD), según las tablas de alimentación teóricas desarrolladas por Nicovita.

$$X \text{ g de alimento} = 5 \text{ camarones} \times 0.2 \text{ (GCD)} = 1 \text{ g}$$

Recambios de agua.

Durante todo el bioensayo se realizaron recambios diarios equivalentes al 40 % del volumen total.

Tratamiento.

Se evaluaron tres concentraciones de sulfato de cobre libre (1; 1,5 y 2 ppm), con tres réplicas cada una. La aplicación del químico se realizó durante tres días consecutivos, teniendo en cuenta los recambios de agua, como se describió anteriormente.

8.3.3. Variables físico-químicas.

La alcalinidad de carbonatos se determinó filtrando una muestra de agua con papel scott hasta obtener 50 ml de ésta, a continuación se agregó una gota de anaranjado de metilo y finalmente se tituló con ácido sulfúrico al 22 % hasta obtener una coloración naranja oscura.

Las lecturas de amonio se realizaron de acuerdo a lo establecido por el manual del espectrofotómetro Hach DR 2000. Se filtraron 25 ml de la muestra de agua, luego se agregaron los reactivos salicilato amoniacal y cianurato amoniacal marca Hach. El primero de estos se dejó actuar por tres minutos e inmediatamente después se adicionó el segundo, se esperaron 15 min y finalmente la muestra se introdujo en una celda donde fue leída en un espectrofotómetro DR 2800 a una longitud de onda de 655 nm.

8.3.4. Variables bióticas.

Para el recuento fitoplanctónico se decantó una muestra de 80 ml durante 24 h, finalizado el tiempo se sifoneó lentamente con una manguera obteniendo así una muestra de 50 ml, ésta se fijó con 1 ml de lugol. Para su análisis se extrajo una alícuota de 0,1 ml y se vertió en una placa Palmer Maloney, donde finalmente se analizó bajo el microscopio de contraste de fases con aumento de 40x y se contó en cinco campos. De la muestra se sumaron los individuos pertenecientes a los grupos de diatomeas, dinoflagelados, clorófitas y cianófitas, luego se dividieron en cinco (número de campos) y finalmente se multiplicaron por el factor de la placa (2 546). Al realizar las operaciones mencionadas para cada grupo, se sumaron los resultados obtenidos para así conocer el número de organismos por mililitro en el tanque.

8.4. FASE DE GABINETE

8.4.1. Sistema de monitoreo de *M. trautwineana* y *P. viridis*.

De acuerdo al nivel de infestación de mejillón tanto en piscinas como reservorios, se establecieron las categorías baja (0-15 animales por segmento), media (16-30 animales por segmento) y alta (>31 animales por segmento). Los nombres utilizados corresponden a la nomenclatura empleada en la finca camaronera.

Las diferencias en las variables físico-químicas y bióticas entre los grupos se determinaron a través del programa estadístico Prism 3.0 (GraphPad, California, USA). Estas fueron recolectadas de matrices llevadas por el personal de finca. Debido a que en la información correspondiente a los canales reservorios no hay datos sobre turbidez, alcalinidad de carbonatos y amonio, éstos no fueron reportados.

Con el fin de establecer si existían diferencias significativas entre los parámetros cuantitativos entre las piscinas de baja y alta infestación, así como en los canales

reservorios, se realizó una prueba paramétrica *t* pareada en el caso que los datos fueron normales, de no ser así, se utilizó la prueba no paramétrica Wilcoxon.

8.4.2. Parámetros productivos de camarón en piscinas infestadas y no infestadas de mejillón *M. trautwineana* y *P. viridis*

Se realizó una comparación entre 10 pares de piscinas intensivas (infestadas y no infestadas) analizadas después de la cosecha, entre los meses de junio-diciembre de 2008. Para su selección se verificó que éstos fueran lo más homogéneo posible en cuanto al área de la piscina (Ha), animales sembrados por hectárea (>50) y fecha de cosecha. Las variables analizadas fueron factor de conversión alimenticia, peso promedio final (g), crecimiento (g/semana), porcentaje de sobrevivencia y productividad (Kg/Ha/día).

- **Peso final:** Es obtenido en la planta de proceso cuando llega la cosecha.
- **Crecimiento (gramos/semana):** Peso promedio final dividido por el número de semanas que los camarones estuvieron en la piscina.
- **Sobrevivencia:** El número de camarones cosechados es estimado dividiendo la biomasa final de la cosecha por el peso promedio de los animales. Este se expresa como un porcentaje del número de postlarvas sembrados en la piscina.
- **Productividad (Kg/Ha/día):** Biomasa final de camarones cosechados dividido por el área de la piscina y el número de días del ciclo.

Para la comparación de las anteriores variables en cada par de piscinas (presencia y ausencia de infestación de mejillón) se utilizó una prueba *t* pareada ya que los datos cumplían los supuestos de normalidad.

8.4.3. Control químico de *M. trautwineana* y *P. viridis*

Los registros obtenidos de mejillones y camarones muertos en los bioensayos realizados para el control químico con biobalas se organizaron en tablas de Excel y procesaron a través del programa estadístico GraphPad Prism 3.0. Este programa genera curvas de sobrevivencia utilizando el método de Kaplan Meier log-rank χ^2 , con un intervalo de confianza del 95 % (De la Vega *et al.*, 2008).

La dosis letal 50 (DL50) se calculó a través de un análisis de regresión no lineal utilizando el programa estadístico GraphPad Prism 5.0. Se elaboró una matriz especificando las concentraciones de los compuestos químicos empleadas en los tratamientos y la sumatoria de individuos muertos en cada una de las tres réplicas. Las concentraciones fueron transformadas con logaritmo para después realizar una simulación de dosis-respuesta. Se especificó el número mínimo y máximo de individuos muertos por especie en cada réplica.

8.4.4. Ensayos en piscinas.

Para comprobar la efectividad del tratamiento con sulfato de cobre en las piscinas, se organizaron los datos obtenidos en una matriz y luego se graficaron utilizando el programa Microsoft Excel 2003. Para esto se separó el porcentaje de mortalidad en cada una de las especies, tanto en la caja ubicada en la estructura de entrada como de salida.

8.4.5. Parámetros productivos del camarón *L. vannamei* en piscinas tratadas con sulfato de cobre.

Se seleccionaron seis pares de piscinas en producción mayores a 50 días, con y sin tratamiento de CuSO_4 libre en la columna de agua. En el análisis se realizaron comparaciones entre el crecimiento semanal y acumulado de las piscinas tratadas contra las no tratadas. Los valores fueron tabulados en una matriz y posteriormente graficados utilizando el programa Microsoft Excel 2003. En ambos caso, debido a la

normalidad de los datos, se realizó la prueba t pareada para establecer si existían diferencias estadísticas significativas.

Se realizó también una comparación entre el crecimiento semanal de las piscinas tratadas, antes y después de la aplicación del CuSO_4 . Finalmente se estableció el crecimiento semanal promedio en cuatro semanas después de la aplicación del químico. Los valores fueron tabulados y posteriormente graficados, utilizando el programa Microsoft Excel 2003. Debido a que en este caso el $n = 4$, se realizó únicamente estadística descriptiva.

8.4.6. Variación de la turbidez en piscinas después de la aplicación de CuSO_4

Se realizó una comparación de la turbidez entre 12 pares de piscinas antes y después de la aplicación de CuSO_4 . Para esto se utilizaron los valores de disco secchi cinco días antes y después del tratamiento y se promediaron. Se empleó la prueba t pareada para establecer las diferencias entre la turbidez antes y después de la adición del químico.

9. RESULTADOS

9.1. SEGUIMIENTO PISCINAS Y RESERVORIOS

A continuación se presentan los resultados del monitoreo de mejillón adulto en siete piscinas durante un ciclo de cosecha, así como en los reservorios Colacua y Camcar, durante un periodo máximo de 126 días. Los nombres utilizados corresponden a la nomenclatura empleada en la finca camaronera. Las variables analizadas fueron recolectadas de matrices llevadas por el personal de finca. Debido a que en la información correspondiente a los canales reservorios no hay datos sobre turbidez, alcalinidad de carbonatos y amonio, éstos no fueron reportados.

De acuerdo a la colonización de mejillón sobre las cuerdas, tanto piscinas como canales reservorios fueron catalogadas en infestación baja (0-15 animales por segmento), media (16-30 animales por segmento) y alta (>31 animales por segmento). Basado en este rango, se clasificaron en infestación baja cinco piscinas y dos de alta. En el caso de los reservorios, se catalogó uno dentro de infestación media y el otro en alta. Debido a que en la época correspondiente al muestreo todas las piscinas presentaban infestación de mejillón en diferente grado, no se realizaron comparaciones entre piscinas con y sin mejillón.

Tampoco fue posible incluir datos sobre estadíos larvales de mejillón tanto en piscinas como en reservorios debido a que los datos encontrados en las matrices no eran representativos para un análisis estadístico porque en su mayoría eran cero.

9.1.1. Piscinas de baja y alta infestación

Se realizó una comparación entre las variables en las piscinas de baja y alta infestación (Tabla 2). De acuerdo a los resultados estadísticos, la temperatura ($p < 0,0001$), oxígeno disuelto ($p = 0,006$) y número de células totales ($p = 0,035$) fueron

significativamente diferentes. Por el contrario, no se presentaron diferencias en la salinidad ($p = 0,086$), alcalinidad de carbonatos ($p = 0,06$), amonio ($p = 0,25$) y turbidez ($p = 0,31$) entre los grupos de piscinas de baja y alta infestación.

Tabla 2. Comparación entre variables en piscinas de baja y alta infestación. Se especifica la media $\pm$ desviación estándar.

VARIABLE	BAJA INFESTACION	ALTA INFESTACION
TEMPERATURA (°C)	29,24 $\pm$ 0,8	29,81 $\pm$ 0,94
SALINIDAD (ppt)	37,13 $\pm$ 2,39	36,81 $\pm$ 2,34
OXIGENO DISUELTO (mg/L)	6,22 $\pm$ 1,24	5,9 $\pm$ 1,17
ALCALINIDAD DE CARBONATOS (ppm)	141,3 $\pm$ 11,47	134,3 $\pm$ 10,49
AMONIO (mg/L)	0,19 $\pm$ 0,22	0,15 $\pm$ 0,21
TURBIDEZ (cm)	41,29 $\pm$ 19,63	40,76 $\pm$ 9,55
CEL. TOTALES (cel/ml)	536 427 $\pm$ 281 029	374 207 $\pm$ 279 141

9.1.2. Reservorios de media y alta infestación

Al realizar una comparación entre los reservorios de Camcar y Colacua, clasificados como alta y media infestación respectivamente, se concluyó que las variables temperatura ($p < 0,0001$) y número de células totales ($p = 0,008$) presentaron diferencias significativas. La salinidad ($p = 0,47$) y el oxígeno disuelto ($p = 0,23$) no fueron estadísticamente diferentes (Tabla 3).

Tabla 3. Comparación entre variables de reservorios de media y alta infestación. Se especifica la media $\pm$ la desviación estándar.

VARIABLE	MEDIA INFESTACION	ALTA INFESTACION
TEMPERATURA (°C)	29,56 $\pm$ 0,95	29,83 $\pm$ 1,04
SALINIDAD (ppt)	35,88 $\pm$ 1,79	34,21 $\pm$ 3,023
OXIGENO DISUELTO (mg/L)	5,47 $\pm$ 0,42	5,41 $\pm$ 0,79

CEL. TOTALES (cel/ml)	78 802 ± 33 509	134 451 ± 51 556
------------------------------	-----------------	------------------

9.2. PARAMETROS PRODUCTIVOS DE CAMARON EN PISCINAS

INFESTADAS Y NO INFESTADAS DE MEJILLÓN *M. trautwineana* y *P. viridis*.

Durante el periodo comprendido entre los meses de junio-diciembre de 2008, se evaluaron los parámetros productivos en diez pares de piscinas infestadas y no infestadas. Aunque existe una tendencia a una disminución en crecimiento y sobrevivencia de las piscinas con mejillón, no se encontraron diferencias significativas en el peso promedio final (t pareada = 0,96, $n = 10$, $p = 0,36$); crecimiento (t pareada = 1,11, $n = 10$, $p = 0,29$) ni en la sobrevivencia (t pareada = 1,45, $n = 10$, $p = 0,18$). Sin embargo, en las piscinas infestadas se registró un mayor factor de conversión alimenticia (t pareada = 3,84, $n = 10$, $p = 0,004$) y una productividad más baja (t pareada = 2,83, $n = 10$, $p = 0,02$), producto del efecto combinatorio de la disminución en sobrevivencia y crecimiento (Figura 8). En la Tabla 4 se especifica la media $\pm$ la desviación estándar de cada uno de los parámetros.

Tabla 4. Parámetros productivos de los 10 pares de piscinas infestadas y no infestadas analizadas

VARIABLE	INFESTADAS	NO INFESTADAS
PESO PROMEDIO FINAL (g)	14,90 ± 3,68	15,86 ± 3,19
CRECIMIENTO (g/SEMANA)	0,92 ± 0,14	0,98 ± 0,16
SOBREVIVENCIA (%)	61,74 ± 7,6	65,89 ± 8,86
CONVERSIÓN ALIMENTICIA (F.C.A)	2,13 ± 0,23	1,83 ± 0,12
PRODUCTIVIDAD (KG/HA/DÍA)	38,59 ± 3,97	45,03 ± 6,96

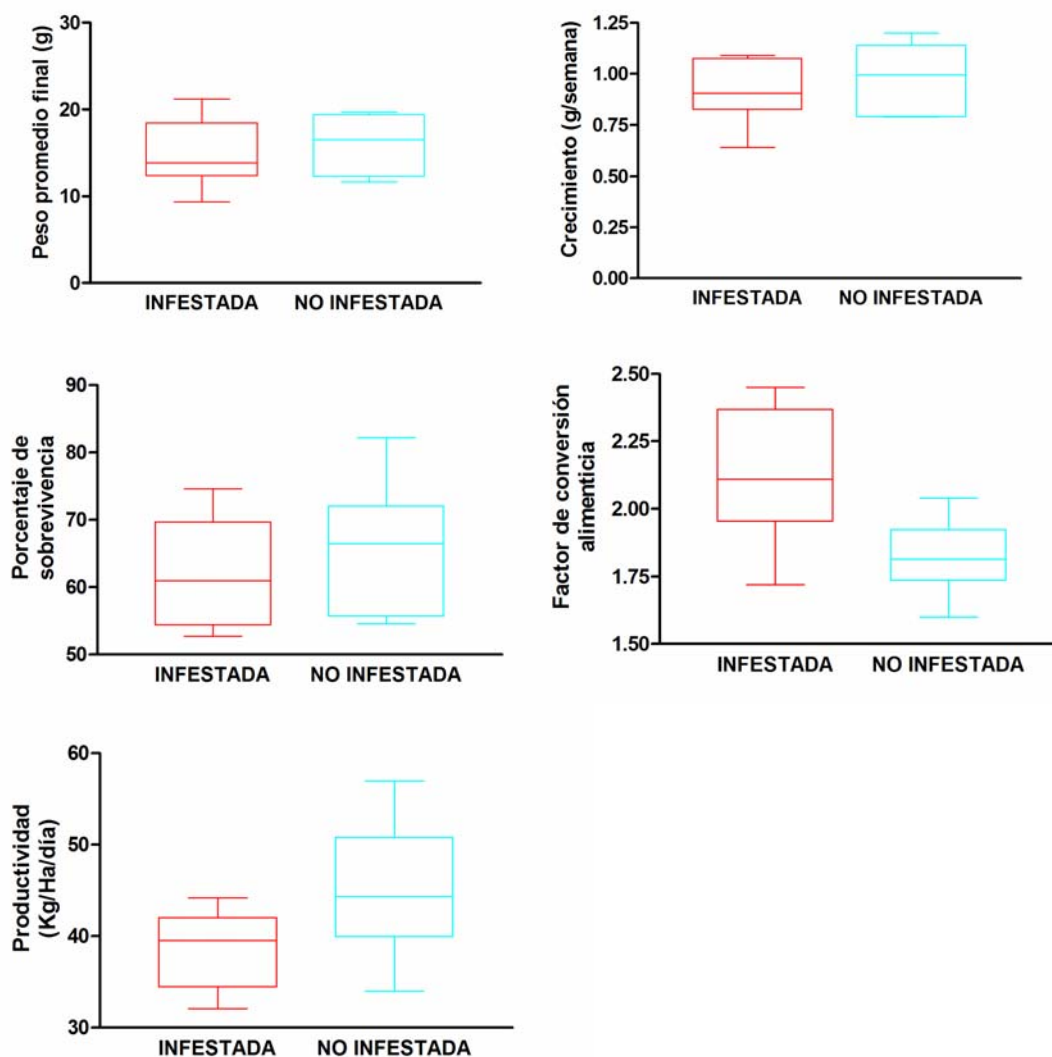


Figura 8. Peso promedio final (g), crecimiento (g/semana), porcentaje de sobrevivencia, factor de conversión alimenticia y productividad (Kg/Ha/día) de *L. vannamei* en piscinas infestadas y no infestadas. Se registró un mayor factor de conversión alimenticia ($p = 0,004$) y una menor productividad ($p = 0,02$) en piscinas con mejillón. Las graficas muestran la media $\pm$ desviación estándar.

9.3. CONTROL QUÍMICO

9.3.1. Ensayos experimentales en acuarios

Entre los meses de marzo y julio de 2009, lapso durante el cual se realizaron las pruebas de control, la temperatura promedio registrada fue $29,88 \pm 0,94$ °C, la salinidad $22,18 \pm 4,58$ ppt y el nivel de oxígeno disuelto $6,06 \pm 1$ mg/L.

En el primer ensayo se evaluaron dos tipos de biobalas 1) sulfato de cobre (CuSO_4) al 20 % y 2) amina cuaternaria (DB45) al 20 %, como también CuSO_4 libre. Se identificaron los compuestos y concentraciones más efectivos frente al control de las especies invasoras de mejillón *M. trautwineana* y *P. viridis*, para así poder trabajar sobre éstos en posteriores experimentos.

En las biobalas de CuSO_4 al 20 % se evaluaron seis concentraciones; 0,05; 0,5; 2,5; 5; 50 y 500 ppm de biobalas. Este ensayo tuvo una duración de 11 días, tiempo durante el cual se registró diariamente el número de mejillones muertos. La Figura 9 ilustra la mortalidad acumulada de ambas especies. *Mytilopsis trautwineana* (Figura 9A) presentó una mortalidad inferior al 10 % a 0,05 y 0,5 ppm. A 2,5 ppm la mortalidad fue del 20 % y a 5 ppm alcanzó el 90 % el día 11. Concentraciones de 50 y 500 ppm generaron el 100 % de mortalidad los días cinco y tres respectivamente. Entre los tratamientos y el control se presentaron diferencias estadísticas significativas ($p < 0,0001$). La Figura 9B muestra la mortalidad acumulada de *P. viridis*. A 0,05 ppm se presentó una mortalidad inferior al 10 %. A 0,5 ppm la mortalidad fue del 30 % el día 11. Finalmente las concentraciones de 2,5- 5- 50 y 500 ppm alcanzaron una mortalidad del 100 % a los nueve, siete, tres y dos días respectivamente. Se presentaron diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos y el control ($p < 0,0001$).

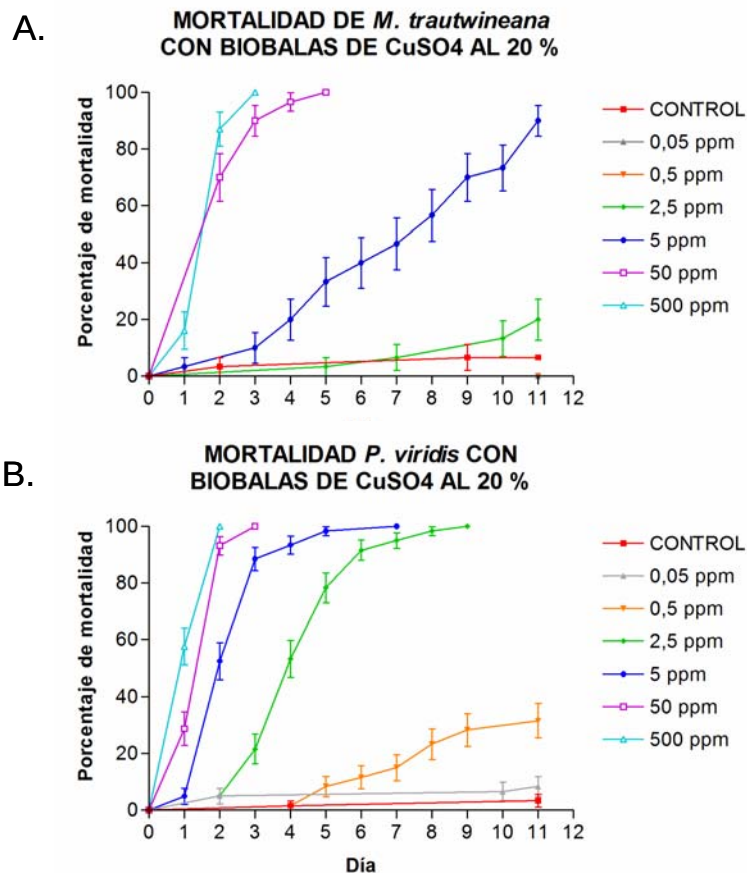


Figura 9. Mortalidad acumulada de las especies *M. trautwineana* y *P. viridis* después del tratamiento con biobalas de CuSO_4 al 20 %. A) En *M. trautwineana* se generó el 90 % de mortalidad a 5 ppm de biobalas el día 11 ($p < 0,0001$) B) En *P. viridis*, la concentración de 2,5 ppm de biobalas produjo el 100 % de mortalidad el día nueve.

En el tratamiento con biobalas de amina cuaternaria al 20 % se evaluaron cinco concentraciones (0,5; 5; 50; 500 y 5000 ppm de biobalas), sin resultados positivos en ninguna de las dos especies (Figura 10). En *M. trautwineana* (Figura 10A), concentraciones menores e iguales a 50 ppm de biobalas generaron menos del 10 % de mortalidad, sin diferencias estadísticamente significativas entre alguna de éstas y los controles ($p = 0,251$). Entre 500 y 5000 ppm de biobalas se produjo mortalidad a partir del quinto día, alcanzando el 55 y 100 % respectivamente a los 11 días. Así mismo, en *P. viridis* (Figura 10B) el tratamiento tampoco fue efectivo, ya que fue necesaria una concentración de 5000 ppm de biobalas para alcanzar una mortalidad

del 100 % a los 11 días. A 5 y 50 ppm de biobalas se presentó el 30 y 25 % de mortalidad respectivamente el día 11.

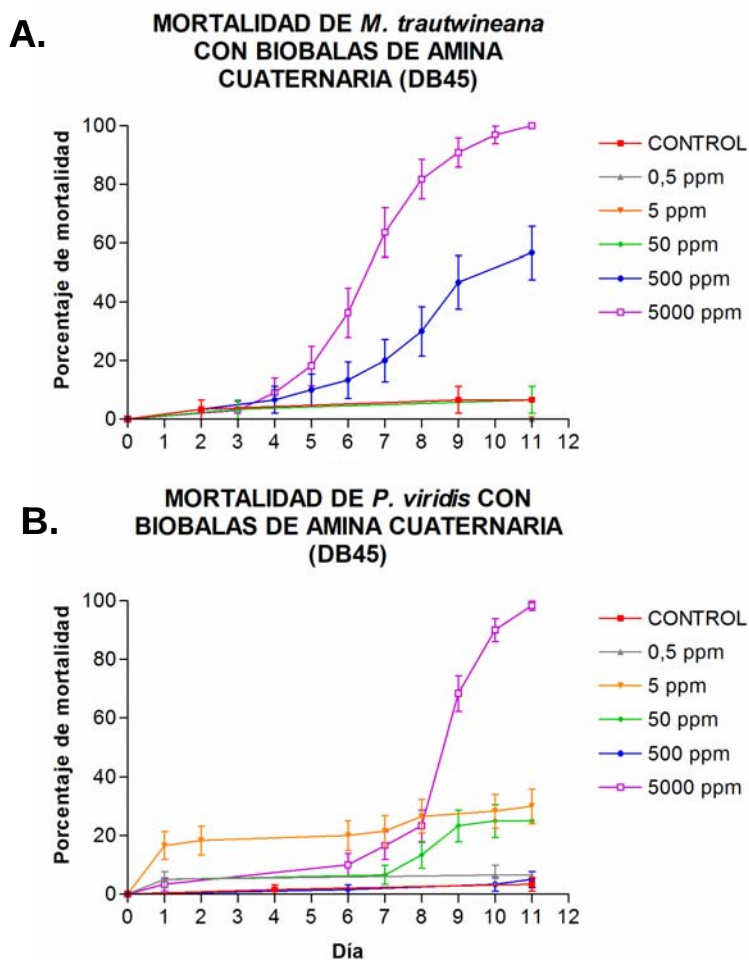


Figura 10. Mortalidad acumulada de las especies *M. trautwineana* y *P. viridis* después del tratamiento con biobalas de amina cuaternaria (DB45) al 20 %. La concentración de 5000 ppm de biobalas generó el 100 % de mortalidad el día 11 en las especies *M. trautwineana* (A) y *P. viridis* (B).

Paralelamente se realizó el tratamiento con CuSO_4 libre a concentraciones de 0,1; 0,5; 1; 10 y 100 ppm del compuesto durante 12 días. La Figura 11 representa el porcentaje de mortalidad acumulada de ambas especies tras la aplicación del químico. En *M. trautwineana* (Figura 11A), concentraciones de 0,5 y 1 ppm de CuSO_4 generaron un 40 y 80 % de mortalidad los días ocho y nueve respectivamente. *Perna*

viridis (Figura 11B) no mostró diferencias entre concentraciones de 0,5 y 1 ppm de CuSO_4 ($p = 0,72$), alcanzando el 92 y 94 % de mortalidad respectivamente el sexto día. A 10 y 100 ppm de CuSO_4 se produjo un 100 % de mortalidad en ambas especies. En el caso de *M. trautwineana* esto ocurre el tercer día y en *P. viridis* el cuarto y tercer día respectivamente.

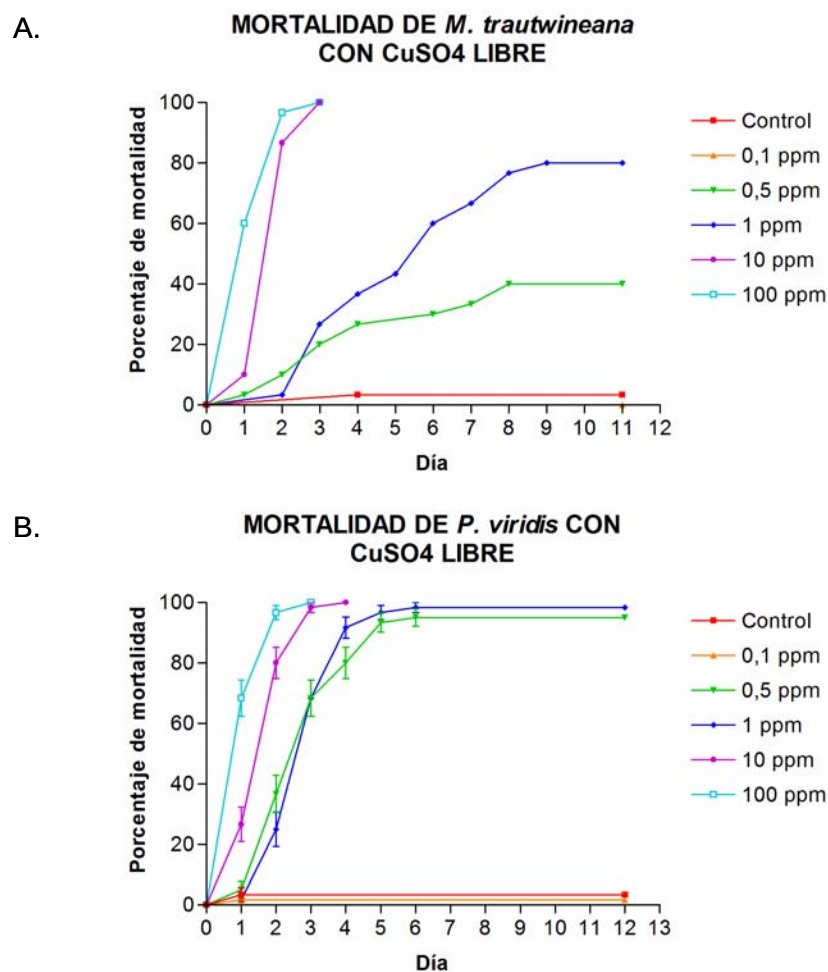


Figura 11. Mortalidad acumulada de *M. trautwineana* y *P. viridis* después del tratamiento con sulfato de cobre libre a cinco concentraciones distintas. A) En *M. trautwineana*, se generó el 80 % de mortalidad a 1 ppm el día nueve. B) En *P. viridis*, a 0,5 ppm se produjo el 92 % de mortalidad el sexto día.

En cada uno de los tratamientos anteriores se calculó la DL50 264 h para ambas especies de mejillón. Se comprobó que no existen diferencias entre el tratamiento

con biobalas de sulfato de cobre al 20 % y el CuSO_4 libre. Se demostró también que las biobalas de amina cuaternaria requieren dosis muy altas del compuesto para generar el 50 % de mortalidad en la población, tal como se muestra en la Tabla 5. La Figura 12 ilustra el Log DL50 264 de los compuestos evaluados en ambas especies.

Tabla 5. DL50 264 h de los compuestos evaluados en las especies de mejillón *M. trautwineana* y *P. viridis*

<i>M. trautwineana</i>				
COMPUESTO	DL50 (ppm)	INTERVALO DE CONFIANZA AL 95 % (ppm)	LOG DL50 (ppm)	INTERVALO DE CONFIANZA AL 95 % (ppm)
BIOBALAS CuSO_4 AL 20 %	3,24 ppm biobalas (0,65 ppm de CuSO_4)	1,8 y 5,83 ppm de biobalas	0,51 ppm de biobalas (-0,19 ppm de CuSO_4)	0,26 y 0,77 ppm de biobalas
BIOBALAS AMINA CUATERNARIA AL 20 %	384,6 ppm de biobalas (76,92 ppm de amina cuaternaria)	183,6 y 805,8 ppm de biobalas	2,59 ppm (1,89 ppm de amina cuaternaria)	2,26 y 2,91 ppm de biobalas
CuSO_4 LIBRE	0,55 ppm	0,31 y 1 ppm	-0,26 ppm	-0,51 y - 8,65 ppm
<i>Perna viridis</i>				
BIOBALAS CuSO_4 AL 20 %	0,57 ppm de biobalas (0,11 ppm de CuSO_4)	0,29 – 1,11 ppm de biobalas	-0,25 ppm de biobalas (-0,943 ppm de CuSO_4)	-0,54 – 0,05 ppm de biobalas
BIOBALAS AMINA CUATERNARIA AL 20 %	1 341 ppm de biobalas (268,2 ppm de amina cuaternaria)	352 – 5 108 ppm de biobalas	3,13 ppm de biobalas (2,43 ppm de amina cuaternaria)	2,55 – 3,71 ppm de biobalas
CuSO_4 LIBRE	0,18 ppm	0,07 y 0,46 ppm	-0,75 ppm	- 1,16 y - 0,33 ppm

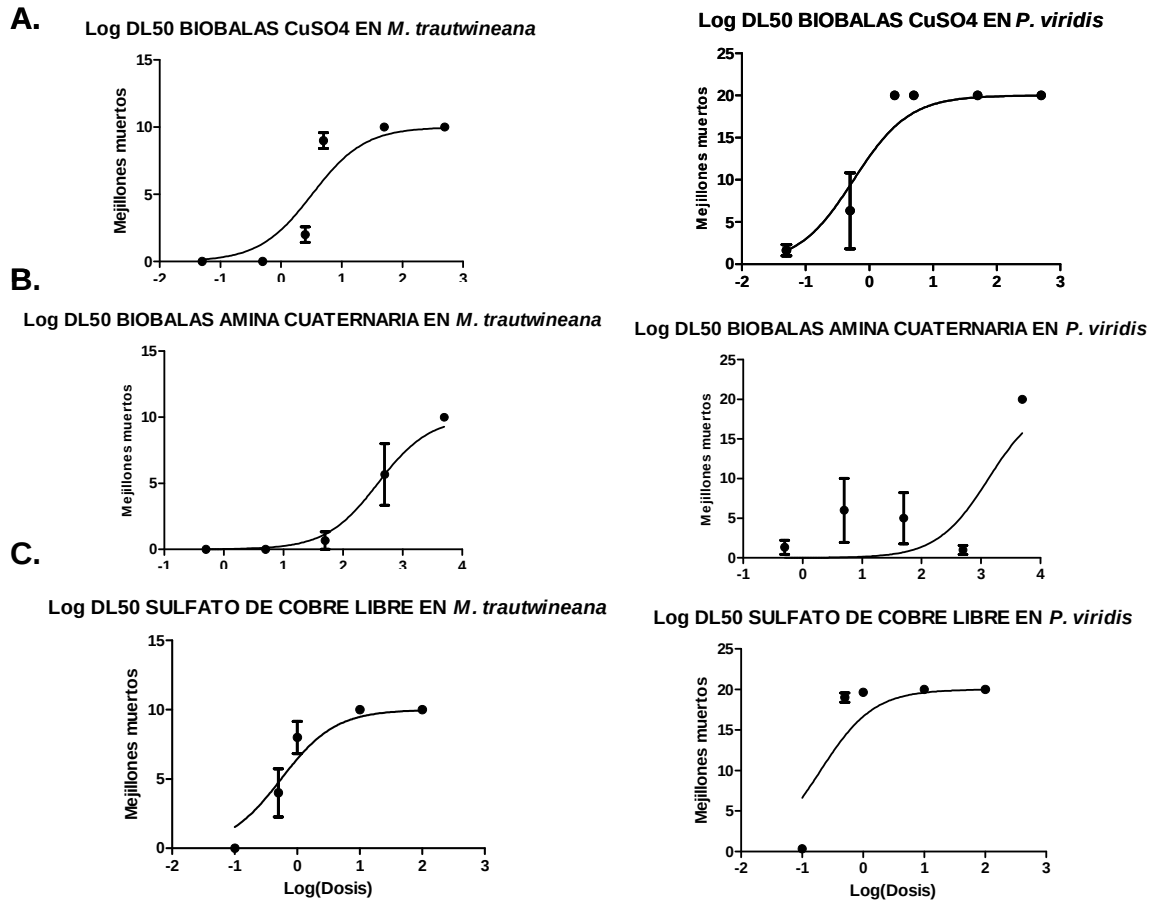


Figura 12. Log DL50 264 h de las biobalas de sulfato de cobre al 20 %, amina cuaternaria al 20 % y del sulfato de cobre libre en las especies *M. trautwineana* y *P. viridis*.

Con los resultados obtenidos, se realizó un experimento en el rango de concentraciones de CuSO₄ (0,5-10 ppm) que generaron mortalidades mayores al 90 % en ambas especies, y que éstas estuvieran dentro de los parámetros no tóxicos (0,025-2 ppm) según Boyd y Massaut (1999) y Huggett *et al.* (2001).

Por dichas razones, se evaluaron las concentraciones 0,5; 1; 1,5 y 2 ppm de CuSO₄ libre por un periodo de 10 días. En la Figura 13 se muestran los resultados obtenidos en *M. trautwineana* (Figura 13A) y *P. viridis* (Figura 13B). Para la primera de las especies mencionadas, la concentración de 0,5 ppm ocasionó una mortalidad menor al 10 % el sexto día. A 1 y 1,5 ppm se generó una mortalidad del 50 % el décimo día.

A 2 ppm la mortalidad fue del 70 % el octavo día. Se presentaron diferencias estadísticas significativas entre todos los tratamientos y el control ($p < 0,0001$). La especie *P. viridis* resultó más sensible al tratamiento, a 0,5 ppm se produjo el 75 % de mortalidad el sexto día. A 1, 1,5 y 2 ppm la mortalidad fue del 96, 100 y 98 % respectivamente, sin diferencias estadísticamente significativas entre ninguno de estos tratamientos ($p = 0,49$). Sin embargo, existen diferencias entre todos los tratamientos y el control ($p < 0,0001$).

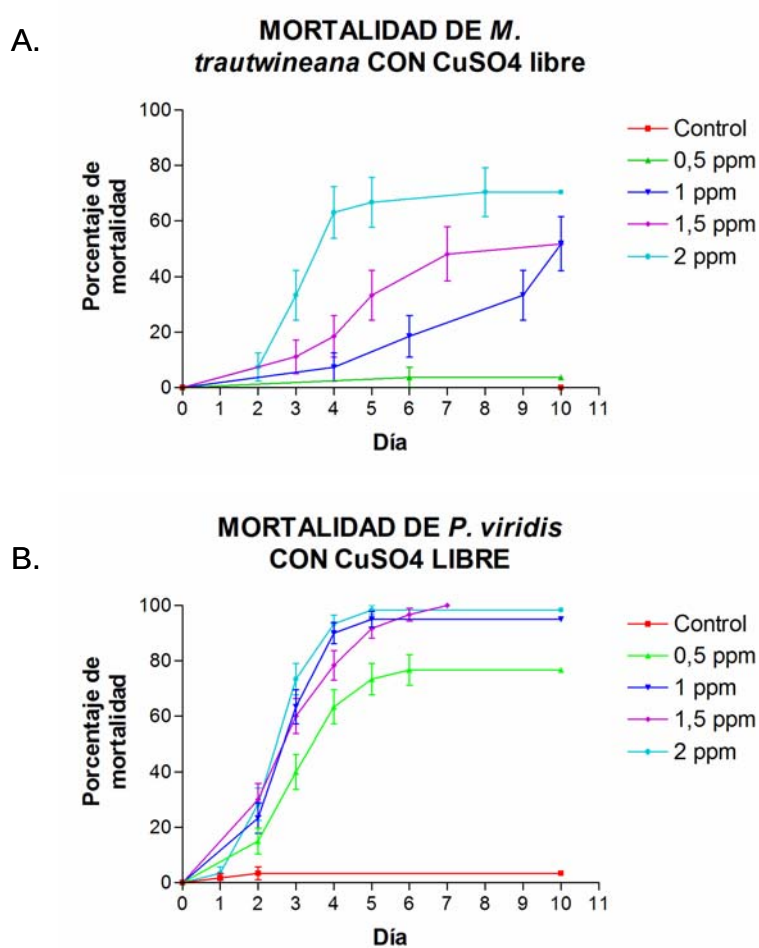


Figura 13. Mortalidad acumulada de *M. trautwineana* y *P. viridis* después del tratamiento con sulfato de cobre libre a cuatro concentraciones diferentes. A) En *M. trautwineana*, la concentración de 2 ppm generó el 70 % de mortalidad el octavo día. B) En *P. viridis*, concentraciones de 1; 1,5 y 2 ppm produjeron el 96, 100 y 98 % de mortalidad los días 5 en el primer y último caso y 7 en el segundo.

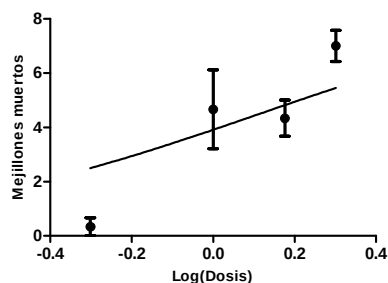
Se calculó la DL50 para el sulfato de cobre libre en ambas especies de mejillón tal como se muestra en la Tabla 6, donde se especifica también el Log DL50 240 h $\pm$ la desviación estándar y el intervalo de confianza al 95 % en ambos casos. En la Figura 14 se ilustra el Log DL50 240 h en ambas especies.

Tabla 6. DL50 240 h del sulfato de cobre libre en las especies *M. trautwineana* y *P. viridis*

<i>M. trautwineana</i>				
COMPUESTO	DL50 (ppm)	INTERVALO DE CONFIANZA AL 95 % (ppm)	LOG DL50 (ppm)	INTERVALO DE CONFIANZA AL 95 % (ppm)
CuSO₄ LIBRE	1,3 ppm	0,72 y 2,34 ppm	0,11 $\pm$ 0,12	-0,14 y 0,37
<i>P. viridis</i>				
CuSO₄ LIBRE	0,1 ppm	0,06 y 0,18 ppm	-0,99 $\pm$ 0,12	-1,24 y -0,74

A.

Log DL50 SULFATO DE COBRE LIBRE EN *M. trautwineana*



B.

Log DL50 SULFATO DE COBRE LIBRE EN *P. viridis*

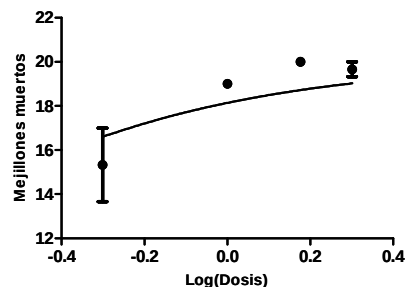


Figura 14. Log DL50 240 h del sulfato de cobre libre en las especies de mejillón *M. trautwineana* y *P. viridis*. En ambos casos, el valor R^2 es bajo, 0,52 y 0,48 en *M. trautwineana* (A) y 0,483 en *P. viridis* (B) respectivamente, indicando que la regresión no es muy confiable.

Debido a que la respuesta en *M. trautwineana* frente a los tratamientos no es constante, con un porcentaje de mortalidad variable en los diferentes ensayos, es considerada más resistente que *P. viridis*. Establecido esto, se decidió enfocar los

ensayos en el control efectivo de esta primera especie mediante otros métodos aún no empleados, entre éstos el sulfato de cobre encapsulado (biobalas) al 30 %

Se evaluaron tres concentraciones; 1; 1,5 y 2 ppm de biobalas de CuSO_4 al 30 % por un periodo de 12 días (Figura 15). En *M. trautwineana*, concentraciones de 1 y 1,5 ppm de biobalas no presentaron diferencias entre sí ($p = 0,4$), resultando en menos del 15 % de mortalidad. A una concentración de 2 ppm de biobalas se generó el 40 % de mortalidad el día nueve, con diferencias significativas ($p = 0,001$) en comparación con el control. En la especie *P. viridis* el tratamiento logró el 78 y 80 % de mortalidad a concentraciones de 1 y 1,5 ppm de biobalas los días nueve y siete respectivamente, sin diferencias significativas entre ambas ($p = 0,3914$). A 2 ppm de biobalas se obtuvo el 100 % de mortalidad el quinto día. Se presentaron diferencias significativas ($p < 0,0001$) entre los tratamientos y el control.

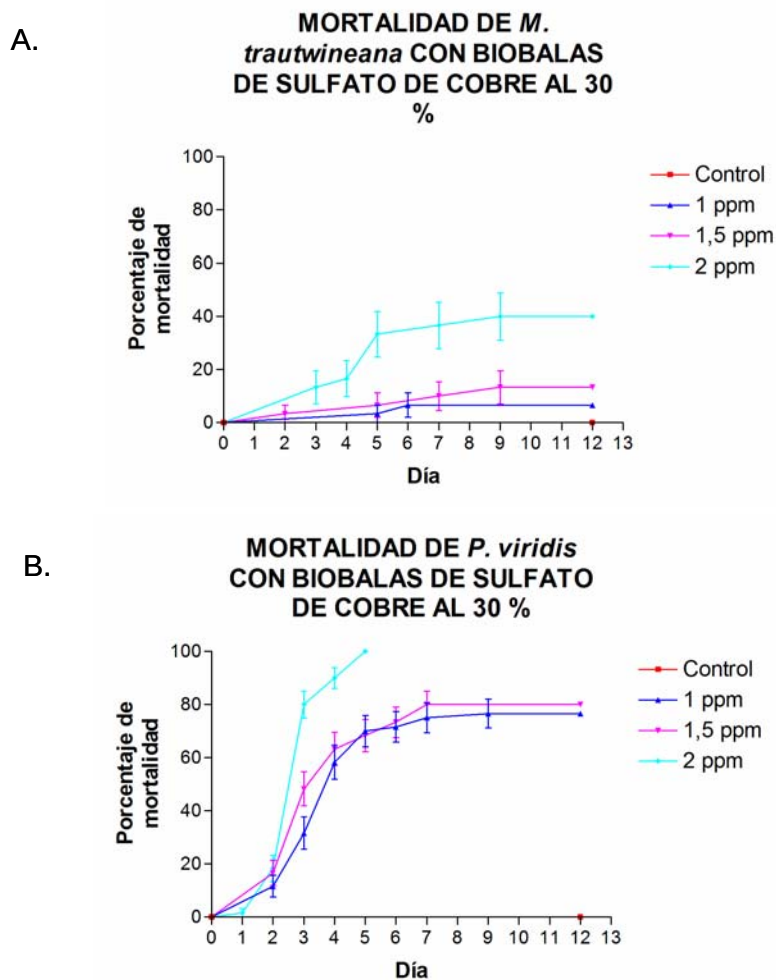


Figura 15. Mortalidad acumulada de *M. trautwineana* y *P. viridis* luego del tratamiento con biobalas de sulfato de cobre al 30 %. A) En *M. trautwineana* la concentración de 2 ppm generó el 40 % de mortalidad el día nueve. B) En *P. viridis* la concentración de 2 ppm de biobalas logró el 100 % de mortalidad el quinto día.

Para *M. trautwineana* no fue posible calcular la DL50 ya que a la mayor concentración evaluada (2 ppm de biobalas) se logró un 40 % de mortalidad. Para *P. viridis* los resultados se muestran en la Tabla 7, donde se especifica el Log DL50 264 h $\pm$ desviación estándar. La Figura 16 ilustra el Log DL50 264 h para ésta última especie.

Tabla 7. DL50 264 h de biobalas de sulfato de cobre al 30 % en *P. viridis*

<i>P. viridis</i>				
COMPUESTO	DL50 (ppm)	INTERVALO DE CONFIANZA AL 95 % (ppm)	LOG DL50 (ppm)	INTERVALO DE CONFIANZA AL 95 % (ppm)
BIOBALAS CuSO₄ AL 30 %	0,4 ppm de biobalas (0,12 ppm de CuSO ₄)	0,23 Y 0,7 ppm de biobalas	-0,39 ± 0,1 ppm de biobalas (-0,91 ppm de CuSO ₄)	-0,63 y -0,16 ppm de biobalas

DL50 CON BIOBALAS DE CuSO₄ AL 30 % EN *Perna viridis*

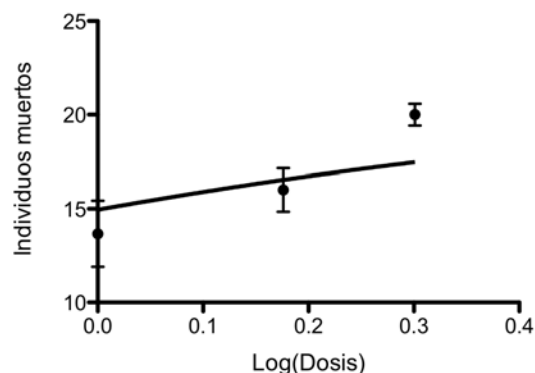


Figura 16. LogDL50 264 h con biobalas de CuSO₄ al 30 % sobre *P. viridis*. El valor calculado fue de $-0,393 \pm 0,103$ ppm. Sin embargo, el $R^2 = 0,404$, indicando que la regresión no es muy confiable.

Con el fin de mejorar la efectividad del tratamiento con sulfato de cobre, se ensayó la mezcla de ácido cítrico y sulfato de cobre. En este ensayo se evaluó el efecto del CuSO₄ libre al 1 % de la alcalinidad total del agua (108 ppm), es decir a 1,08 ppm, así como también dos relaciones diferentes de ácido cítrico y sulfato de cobre (10:1 y 10:4) durante 11 días (Figura 17). En el caso de *M. trautwineana*, la mezcla entre el ácido cítrico y el sulfato de cobre en las dos relaciones evaluadas no tuvo el efecto esperado. El sulfato de cobre libre y la relación 10:4 alcanzaron una mortalidad del 42 %. A una relación de 10:1 el porcentaje de mortalidad aumentó levemente,

logrando el 50 % en el día nueve. No se encontraron diferencias entre ninguno de los métodos evaluados ($p = 0,7$). En *P. viridis* tampoco se presentaron diferencias estadísticas entre los tratamientos ($p = 1$), logrando el 100 % de mortalidad con sulfato de cobre libre y la relación 10:1 el cuarto día, y el tercer día para la relación 10:4.

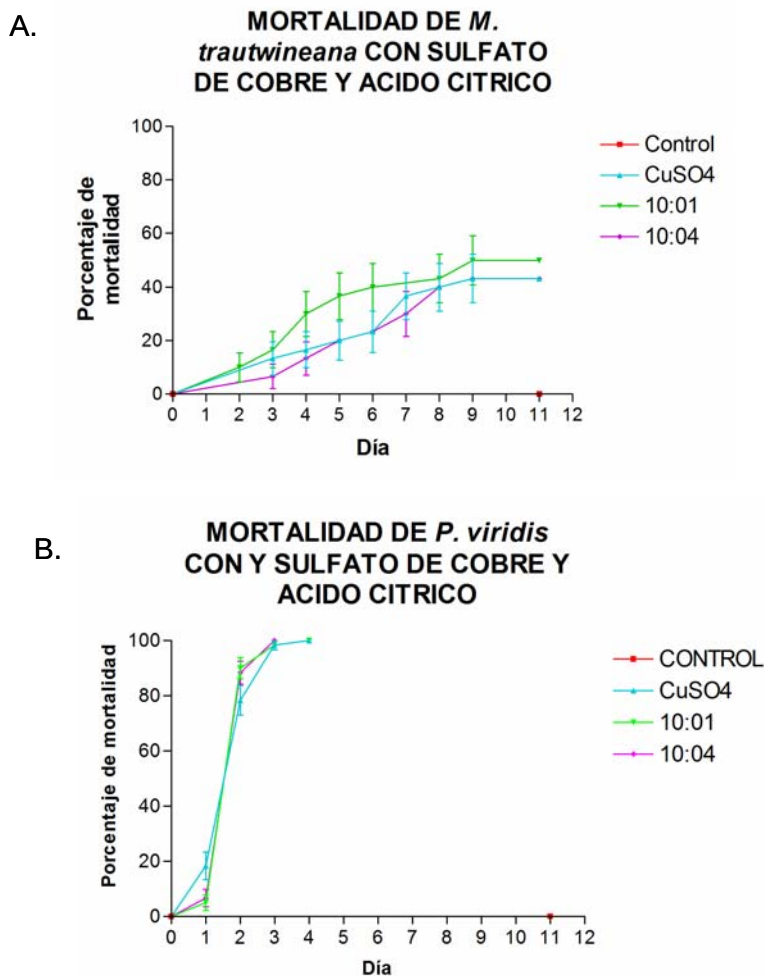


Figura 17. Mortalidad acumulada de *M. trautwineana* y *P. viridis* tras el tratamiento con sulfato de cobre y ácido cítrico. A) En la especie *M. trautwineana* el tratamiento generó el 50 % de mortalidad a una relación de 10:1. B) En todos los tratamientos evaluados el porcentaje de mortalidad aumentó a partir del segundo día ($p < 0,0001$), alcanzando el 100 % en todos los casos.

Debido a la baja efectividad del sulfato de cobre para causar mortalidad en *M. trautwineana*, se evaluó el método de aplicación alternativo en pulso, donde no se

ISABEL CRISTINA CALDERÓN A. 62

renovó el 40 % del volumen de agua diariamente, y dosificación por tres días consecutivos realizando recambios diarios del 40 % del volumen total. La concentración empleada fue de 1,45 ppm de CuSO_4 , correspondiente al 1 % de la alcalinidad. Para el desarrollo de este bioensayo solo se trabajó con *M. trautwineana*, siendo ésta la que presenta una mortalidad variable.

La Figura 18 ilustra los resultados obtenidos después del tratamiento. En este bioensayo desde el primer día el porcentaje de mortalidad aumentó considerablemente, alcanzando el 100 % el día seis en ambos casos, sin diferencias estadísticas significativas entre las dos metodologías ($p = 0,67$).

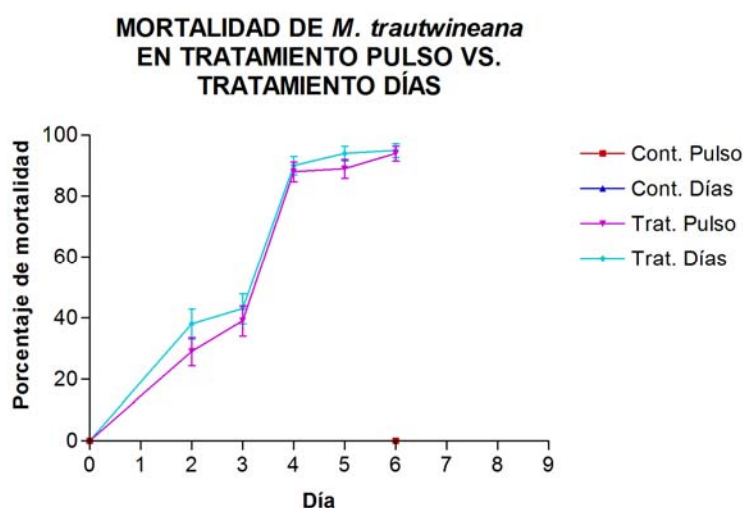


Figura 18. Mortalidad acumulada de *M. trautwineana* mediante dos métodos de aplicación del sulfato de cobre libre al 1 % de la alcalinidad. En ambos casos el tratamiento alcanzó una mortalidad del 100 % el día seis ($p < 0,0001$).

Tratamiento Alternativo

Como método alternativo se evaluó el efecto del hipoclorito de calcio (HTH). El tratamiento se realizó por 5 días consecutivos a cuatro concentraciones diferentes: 3, 5, 10 y 50 ppm del compuesto. Se registraron los resultados durante 11 días (Figura 19). A concentraciones de 3, 5 y 10 ppm no se presentó mortalidad en

ninguna de las especies, a excepción de un individuo *P. viridis* el cuarto día a 3 ppm. A 50 ppm la respuesta fue similar en ambos casos, presentando un 38 y 36 % de mortalidad para *M. trautwineana* y *P. viridis* respectivamente. Se presentaron diferencias significativas ($p = 0,0003$ y $p < 0,0001$ respectivamente) entre los tratamientos y el grupo control. Debido a que en ninguna de las concentraciones evaluadas superó el 50 % de mortalidad, no se calculó la DL50.

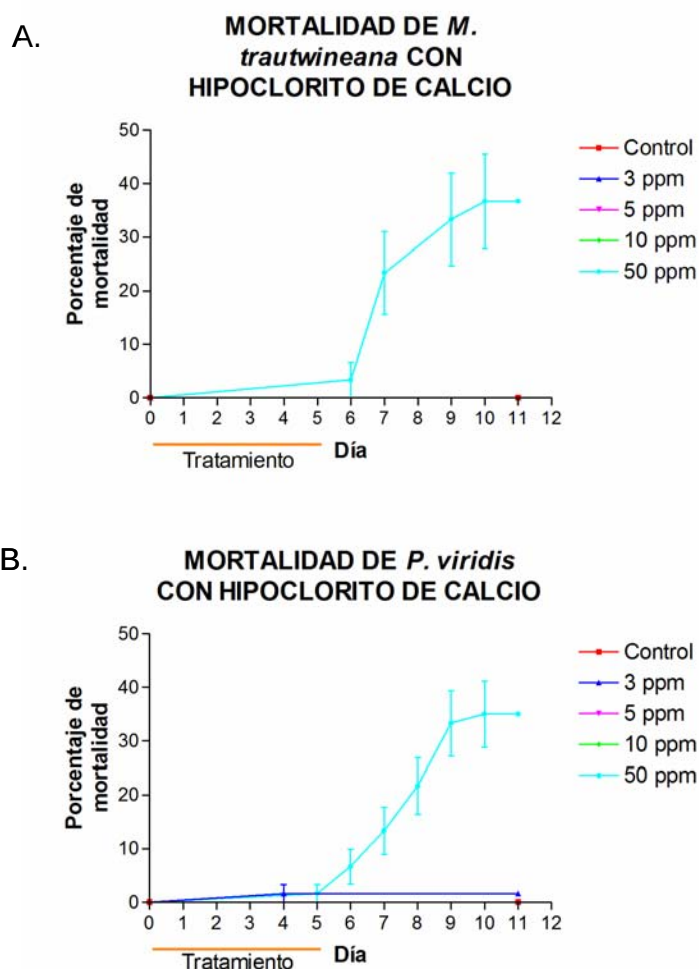


Figura 19. Mortalidad acumulada de las especies *M. trautwineana* y *P. viridis* después del tratamiento con hipoclorito de calcio. A) En *M. trautwineana* a una concentración de 50 ppm logró el 38 % de mortalidad el día 11. B) *Perna viridis* alcanzó el 36 % de mortalidad a 50 ppm el día 11.

Ensayos con camarones

Se evaluó el efecto del CuSO_4 libre en las concentraciones 1; 1,5 y 2 ppm durante 12 días, en los cuales se registró diariamente el número de individuos muertos por acuario. El sulfato de cobre no causó mortalidad a los camarones en ninguna de las tres concentraciones, por lo tanto se decidió aplicar el tratamiento a piscinas comerciales. No se presentaron diferencias estadísticas entre las concentraciones evaluadas y grupo control ($p = 0,39$) (Figura 20).

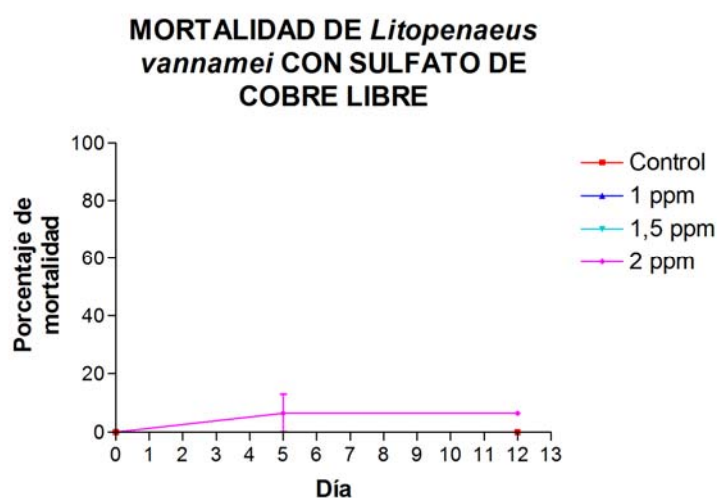


Figura 20. Mortalidad acumulada de *L. vannamei* después del tratamiento con CuSO_4 libre a tres concentraciones diferentes. A una concentración de 2 ppm se generó el 7 % de mortalidad.

9.3.2. Ensayos en piscinas.

Cajas

No se logró establecer una tendencia clara en cuanto a la efectividad del tratamiento con CuSO_4 (Figura 21 y 22), presentándose grandes diferencias dentro y entre piscinas. En algunos casos el compuesto funcionó positivamente, alcanzando hasta un 100 % de mortalidad, mientras que en otros fue menor al 20 %.

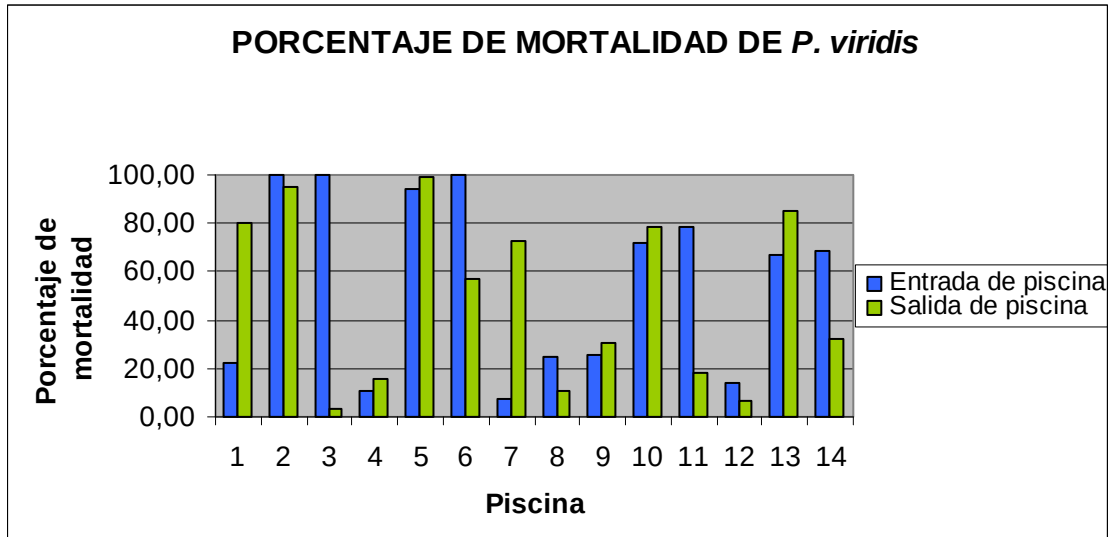


Figura 21. Porcentaje de mortalidad de la especie *P. viridis* en las cajas ubicadas en la entrada y salida de las piscinas.

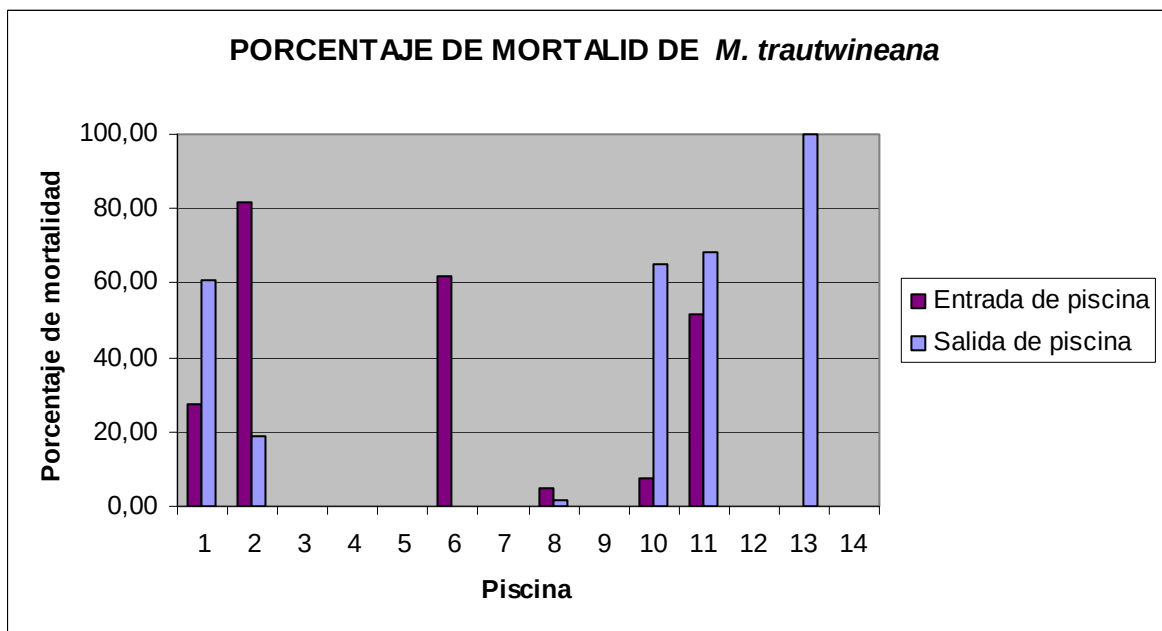


Figura 22. Porcentaje de mortalidad de la especie *M. trautwineana* en las cajas ubicadas en la entrada y salida de las piscinas.

9.3.3. Parámetros productivos del camarón *L. vannamei* en piscinas tratadas con sulfato de cobre.

El tratamiento con sulfato de cobre no solo ha favorecido el control de mejillón en las piscinas, los beneficios de éste se ven reflejados en mejoras en el crecimiento semanal (g/semana) del camarón blanco.

Aquellas piscinas que recibieron tratamiento presentan un mayor crecimiento semanal ($1,34 \pm 0,17$ g/semana) a diferencia de aquellas que no ($0,98 \pm 0,06$ g/semana) (t pareada = 5,1, $n = 6$, $p = 0,004$). Así mismo, el crecimiento acumulado presenta diferencias significativas entre piscinas tratadas y no tratadas $1 \pm 0,07$ g y $0,81 \pm 0,05$ g respectivamente; t pareada = 6,1, $n = 6$, $p = 0,002$ (Figura 23).

Se realizó también una comparación entre el crecimiento semanal únicamente de las piscinas tratadas. Debido a que no en todos los casos existían valores antes del tratamiento, se trabajó con 4 piscinas, los resultados indican que el crecimiento semanal es menor antes ($0,92 \pm 0,32$ gr/semana) que después ($1,35 \pm 0,19$ g/semana) de la aplicación del químico, sin embargo, esto no pudo ser comprobado estadísticamente ya que el “n” es muy pequeño. En la Figura 24 se muestra como éste sigue incrementando durante las cuatro semanas próximas al tratamiento. En este análisis tampoco fue posible realizar una prueba estadística debido a que el “n” es muy pequeño.

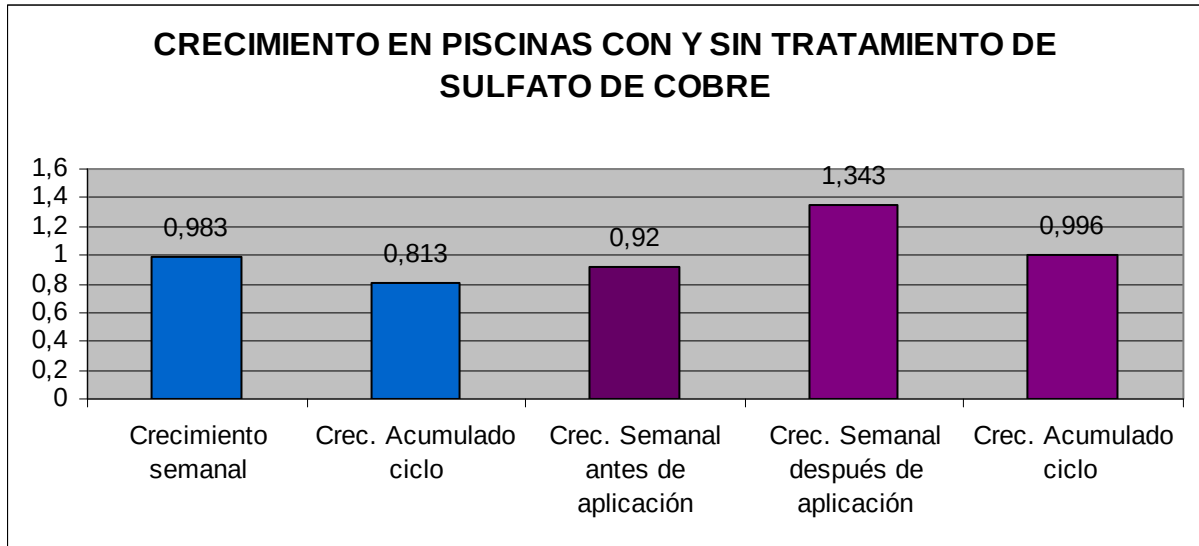


Figura 23. Comparación de crecimiento entre piscinas en producción mayores a 50 días con y sin tratamiento de CuSO_4 , resaltando la media de los datos analizados. En azul piscinas sin algicida y en morado las piscinas con aplicación de CuSO_4

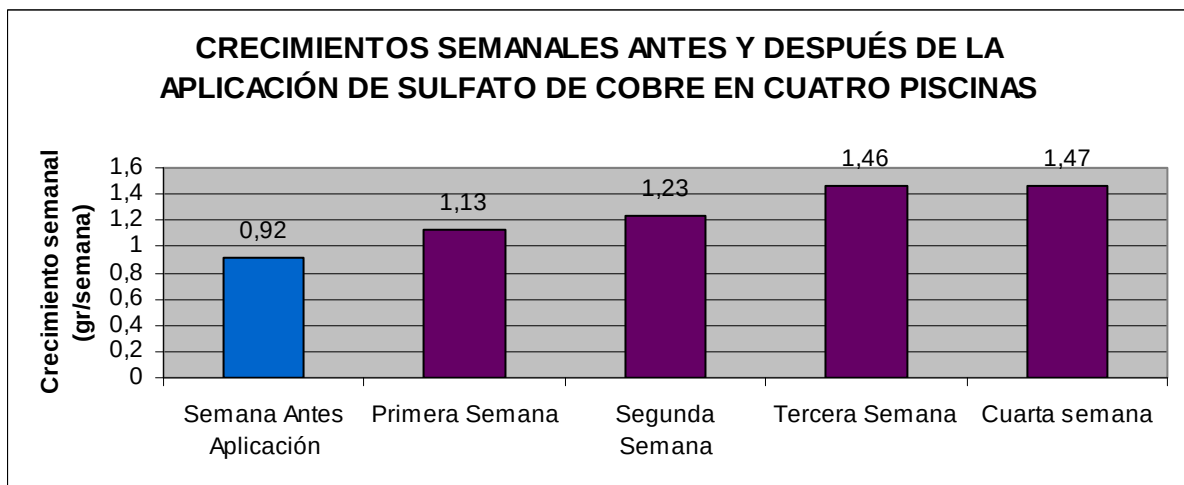


Figura 24. Crecimiento antes y después de la aplicación de sulfato de cobre dividido por semanas. El crecimiento semanal incrementa cada vez más y no vuelve a alcanzar los valores presentados antes del tratamiento.

9.3.4. Variación de la turbidez en piscinas después de la aplicación de CuSO_4

Al realizar una comparación de la turbidez en piscinas antes y después del tratamiento con sulfato de cobre, se comprobó que efectivamente la turbidez es

menor (mayor disco secchi) antes que después del tratamiento ($81,42 \pm 7,03$ cm y $61,2 \pm 4,74$ cm respectivamente; $p = 0,02$) (Figura 25).

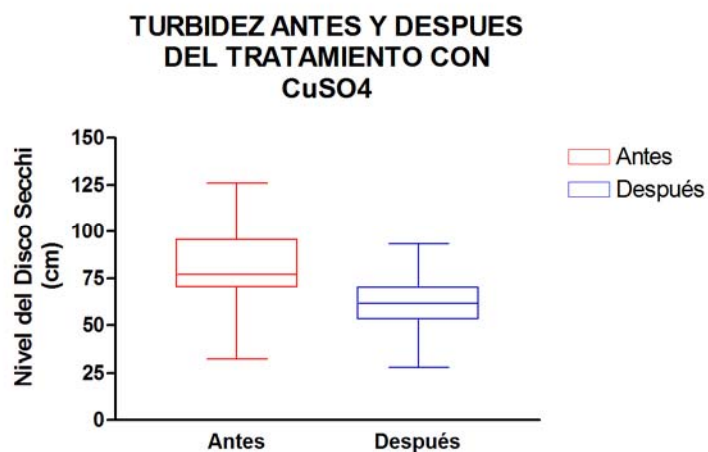


Figura 25. Comparación entre la turbidez en piscinas antes y después del tratamiento con CuSO₄. Antes de la aplicación el nivel de disco secchi es mayor, indicando una menor turbidez que después del tratamiento.

10.DISCUSIÓN DE RESULTADOS

10.1. SEGUIMIENTO DE PISCINAS Y RESERVORIOS

10.1.1. Piscinas de baja y alta infestación

Los resultados estadísticos indican que existen diferencias entre la temperatura de los grupos de piscinas de alta y baja infestación, siendo mayor en el primer caso por una diferencia de 0,57 °C. Sin embargo, ésta no es significativa, por tanto no se puede decir que esta variable sea un factor que influya en la presencia de mejillón.

De acuerdo a la literatura, ambas especies estudiadas toleran amplios rangos de temperatura, por lo cual variaciones en dicho parámetro no afectan su supervivencia. El rango límite registrado para *P. viridis* está entre 30 y 35 °C según Nicholson (2002), donde el metabolismo deja de funcionar correctamente. Sin embargo, en ambientes donde hay una reducción o ausencia de fluctuación en dicho parámetro, se puede presentar una dependencia por una mayor temperatura (Hicks y McMahon, 2002). En el caso de *M. trautwineana*, especies pertenecientes a la misma familia como *Mytilopsis leucophaeata* resisten en estado adulto temperaturas que fluctúan entre los 5 °C en Finlandia y los 30 °C en Miami. *Dreissena polymorpha* puede sobrevivir fácilmente a 29 °C (Verween *et al.*, 2007).

Como se ha mencionado anteriormente, los mejillones soportan grandes variaciones de salinidad (Ramachandra *et al.*, 1975; Puyana, 1995). Para *P. viridis* se ha reportado que en ambientes hipotónicos (15 ppt) se presentan alteraciones en su metabolismo, sin embargo estos no son significativos Nicholson (2002). El rango óptimo para este especie se encuentra entre 27 y 33 ppt, aunque su nivel de tolerancia es de 12 a 38 ppt. La especie *M. sallei*, similar a *M. trautwineana*, tiene una tolerancia extrema a cambios de salinidad, entre 0 y 50 ppt, sin embargo, valores por encima de éste último pueden ser letales (Ramachandra *et al.*, 1975).

Durante el tiempo en que fueron monitoreadas las piscinas, no se presentaron diferencias entre la salinidad de las piscinas.

Debido a la eliminación del fitoplancton como consecuencia de la actividad filtradora de los bivalvos (Durán *et al.*, 2007), es de esperarse que los niveles de oxígeno disuelto sean más bajos en las piscinas de mayor que en las de menor infestación, tal como se dio en los grupos analizados ($p = 0,006$). Por esta misma razón, el número de células totales fue menor en las piscinas de alta infestación ($p = 0,035$). Sería lógico que en éstas últimas se presentara una menor turbidez, sin embargo, esto no ocurrió, posiblemente debido a que cuando esto sucede se aplica fertilizante (NPK) inmediatamente para aumentarla.

Otra consecuencia de una alta presencia de mejillón es el incremento en los niveles de amonio. Existen varios estudios que demuestran como los mejillones aumentan el flujo de amonio desde el sustrato hacia la columna de agua, así mismo, lo excretan directamente a partir de sus procesos metabólicos (Fogh Vinther y Holmer, 2008) Sin embargo, los niveles de amonio entre los dos grupos de piscinas analizados no presentaron diferencias significativas ($p = 1$), esto posiblemente por los recambios que se realizan cuando en las lecturas se presentan incrementos notorios en dicha variable.

Entre los grupos de piscinas, la alcalinidad de carbonatos no fue significativamente diferente ($p = 0,057$), aunque se esperaría que en piscinas de mayor infestación ésta fuera menor. Lo anterior debido a que el calcio es considerado un factor limitante para las funciones metabólicas y la formación de la concha de los mejillones, tal como lo describe Whittier *et al.* (2008) en el mejillón cebra, *D. polymorpha*, y debido a que la alcalinidad de carbonatos es un indicador de la presencia y cantidad de calcio que hay en un cuerpo de agua, ésta debería ser más baja en ambientes de alta

infestación, sin embargo, cuando esto ocurre, las piscinas son tratadas con carbonato de calcio (50 Kg/Ha), para así volverla a subir.

10.1.2. Reservorios de media y alta infestación

Aunque los resultados obtenidos a partir del análisis estadístico indican que existen diferencias significativas en la temperatura de los reservorios de infestación alta y media, la diferencia entre las medias es muy baja (0,27 °C) para explicar una mayor presencia de mejillón. Adicionalmente, como se mencionó anteriormente, estos bivalvos toleran amplios rangos de temperatura, lo que los hace ideales para la colonización de nuevos ambientes.

No se registraron diferencias en el nivel de oxígeno disuelto, esto se explica por el constante flujo de agua que existe en los canales, los cuales son abastecidos por tres estaciones de bombeo. La salinidad tampoco fue significativamente diferente entre ambos reservorios. En los resultados se observa como en el reservorio de alta infestación, el número total de células fue mayor, lo cual se debe a las diferentes fuentes de agua. Lo anterior podría explicar la alta fijación de larvas en un ambiente más productivo para su óptimo desarrollo.

10.1.3. Colonización de mejillón en las piscinas camaroneras

Mediante el seguimiento tanto a piscinas como reservorios se comprobó que el tiempo transcurrido entre el asentamiento de las larvas de mejillón a la cuerda y su transformación a un animal adulto ocurre en aproximadamente un mes, para este análisis se eliminó el dato correspondiente a la piscina B44 por ser un valor extremo. En la especie *P. viridis* se ha reportado que la larva veliger se desarrolla después de 16 h, ésta permanece nadando 15 a 20 días previos a la fijación (Rajagopal *et al.*, 1998; Chee, *et al.*, 2002; Malave y Prieto, 2005). Es posible que durante el monitoreo no se hayan registrado animales fijados antes de los 29 días debido a que no son perceptibles a simple vista. Es durante el estado conocido como plantigrado

(500–5000 μm) (Ackerman, 1995), donde el mejillón se convierte en juvenil y es posible detectarlo.

La instalación de cuerdas permitió también demostrar que la colonización de larvas de mejillón en las piscinas monitoreadas no ocurre como un evento único durante el llenado, sino que se presenta en ciclos diferentes de ingreso. Esto se evidenció en piscinas tratadas con sulfato de cobre, donde después de la aplicación del químico, ocurre nuevamente el asentamiento de larvas.

Como se comprobó anteriormente, este algicida actúa efectivamente en el control de la especie *P. viridis* y, aunque no en todos los casos, sobre *M. trautwineana*, por lo cual se infiere una acción efectiva sobre los estadíos larvales de ambas especies. Comúnmente se asume que la larva veliger es más sensible a los químicos que los adultos por su alta tasa de mortalidad natural, así mismo se sabe que los estadíos tempranos de los bivalvos son los más vulnerables, esto ha sido comprobado en las especies *Mytilopsis leucophaeata* y *Dreissena polymorpha* (Verween *et al.*, 2009). Sin embargo, puede también ocurrir, que los animales adultos que sobrevivieron pudieron haber desovado (García-L *et al.*, 2005).

10.2. PARAMETROS PRODUCTIVOS DE CAMARON EN PISCINAS INFESTADAS Y NO INFESTADAS DE MEJILLÓN *M. trautwineana* y *P. viridis*.

No existen muchas investigaciones que identifiquen el efecto negativo que genera la presencia de mejillón en las piscinas camaroneras. Aldridge *et al.* (2008) realizaron un estudio en la finca camaronera C.I. CARTAGENERA DE ACUACULTURA S.A., donde explican el impacto de estos bivalvos y la respuesta de los camarones como una relación dependiente de la densidad. Reportan una mayor sobrevivencia en piscinas no infestadas ($76,0 \pm 2,1$ %) que en piscinas infestadas ($61,2 \pm 2,3$ %; *t* pareada = 6,01, *n* = 7, *p* = 0,001) y una producción más baja en estas últimas (*t* pareada = 2,39, *n* = 10, *p* = 0,05). Demostraron también, una tendencia en los camarones a crecer

más rápidamente en piscinas infestadas (t pareada = 2,26, n = 7, p = 0,06). Finalmente, no encontraron diferencias en el factor de conversión alimenticia en piscinas con y sin mejillón (t pareada = 0,88, n = 7, p = 0,42).

En el presente estudio se realizó un análisis similar en la finca camaronera C.I. OCEANOS S.A., donde se estableció una menor productividad y una tendencia a disminuir la sobrevivencia de los camarones en piscinas infestadas, al igual que los resultados reportados por Aldridge *et al.* (2008). Se encontró también un mayor factor de conversión alimenticia y una tendencia a un menor crecimiento en piscinas con mejillón, contrario a los resultados obtenidos por estos autores.

En los fondos de las piscinas altamente infestadas de mejillón, los pellets de alimento se hunden volviéndose inaccesibles para el camarón, ya que cuando intentan alcanzar la comida generan un estímulo sobre los bivalvos, al cuál éstos responden cerrándose, agarrando algunas veces las antenas y extremidades del camarón. En ensayos realizados en CENIACUA bajo estas circunstancias, se ha demostrado que los camarones se desplazan en la columna de agua adquiriendo hábitos más pelágicos, lo cual incrementa su gasto energético y reduce el acceso al alimento, generando una pérdida de este último (Aldridge *et al.*, 2008), por tanto una mayor conversión alimenticia.

10.3. CONTROL QUÍMICO

10.3.1. Ensayos experimentales en acuarios

En un primer ensayo general se evaluó el uso de biobalas de sulfato de cobre y amina cuaternaria (DB45) al 20 % en el control químico de las especies de mejillón *M. trautwineana* y *P. viridis*. Paralelamente se ensayó el sulfato de cobre libre, logrando así establecer si existen diferencias en la efectividad del producto de forma encapsulada o en estado libre.

El sulfato de cobre es utilizado como algicida en piscinas de acuicultura, generando la inhibición en la respiración y fotosíntesis de las algas, incluidas algunas verde azules como *Mycrocystis*, que en niveles excesivos pueden ocasionar bajas críticas de oxígeno durante la noche (Perkins *et al.*, 1997; Perschbacher *et al.*, 1999; Boyd y Massaut, 1999; Chen y Lin, 2001). Es utilizado en dosis de 0,025-2 ppm. Su tasa de aplicación debe incrementar a medida que la alcalinidad total del agua aumenta (Boyd y Massaut, 1999; Huggett *et al.*, 2001).

Está demostrado que el cobre genera deformación en las branquias de los bivalvos, lo cual conlleva a una disminución en la tasa de filtración. Dicha disminución puede también ser el resultado de evitar este elemento a través del cerrado parcial de las valvas, comportamiento observado en la especie de mejillón *Mytilus edulis* y en algunas especies de ostras tropicales como *Saccostrea cucullata*, *Crassostrea lugubris* y *C. belcheri* (Elfwing y Tedengren, 2002). Igualmente se inhibe la contracción del músculo aductor, perdiendo la capacidad de reaccionar cerrando sus valvas ante cualquier estímulo, hasta finalmente morir (Aldridge *et al.*, 2006).

Las biobalas de sulfato de cobre y amina cuaternaria al 20 %, están diseñadas para liberar el 90 % de su componente activo en un periodo de 60 y 10 min respectivamente, a una temperatura de 20 °C. Debido a las condiciones en la finca camaronera, donde la temperatura y humedad son mayores, es posible que el tiempo de liberación sea menor (D. Aldridge, com. pers.).

Costa *et al.* (2008) argumenta que la tecnología de las biobalas, frente a compuestos que no estén encapsulados, resulta ser aproximadamente un 50 % más tóxica, sin embargo, no se conoce con exactitud la razón. Se han formulado dos hipótesis que podrían responder lo anterior a partir del principio de filtración de los bivalvos, en primer lugar la toxina es liberada directamente en las branquias del mejillón y en segundo lugar el procesamiento de las partículas en su sistema digestivo.

Sin embargo, con base en los resultados de porcentaje de mortalidad y DL50, se concluyó que no existen diferencias en cuanto a la efectividad del tratamiento con CuSO_4 libre y las biobalas de CuSO_4 al 20 %. En el primero de los casos fue necesaria una concentración de 1 ppm para generar una mortalidad del 100 % en *M. trautwineana* y 0,5 ppm para lograr el 92 % de mortalidad en *P. viridis*. Con las biobalas, se utilizó una concentración de 5 ppm de biobalas (equivalente a 1 ppm de CuSO_4) para obtener el 90 % de mortalidad en *M. trautwineana* y 2,5 ppm de biobalas (equivalente a 0,5 ppm de CuSO_4) para alcanzar el 100 % en *P. viridis*.

A diferencia de los anteriores, el tratamiento con biobalas de amina cuaternaria al 20 % no funcionó favorablemente en ninguna de las dos especies. Aunque éstas se han empleado con anterioridad en la erradicación del mejillón cebra, *D. polymorpha* (D'Itri, 1997). Son necesarias concentraciones elevadas (5000 ppm de biobalas) para lograr el 100 % de mortalidad, lo cual no es viable ya que, aunque este compuesto no es tóxico, tan alta cantidad del químico contribuye a un deterioro del medio.

Si bien el CuSO_4 libre y las biobalas de CuSO_4 al 20 % tienen el mismo efecto positivo en el control de ambas especies de mejillón estudiadas, es necesario que la solución al problema sea viable tanto en términos ambientales como económicos, por ser éste un problema a gran escala. El grupo BioBullets Ltda., responsable del suministro de las biobalas, ofrece el producto a un costo de US \$ 1 500/Ha, cifra que no es asequible para el tratamiento de aproximadamente 1 100 Ha en espejo de agua que presenta la finca camaronera. Es por esto que el CuSO_4 , con un valor de US \$ 35/Ha, resulta ser una solución práctica. Con base en esto, se enfocaron los experimentos en dicho algicida alrededor de las concentraciones que reflejaron los mejores resultados.

Al evaluar las concentraciones 0,5; 1; 1,5 y 2 ppm de CuSO_4 libre, se concluyó que la respuesta de la especie *M. trautwineana* frente al tratamiento con este compuesto no es constante, siendo el porcentaje de mortalidad variable en cada uno de los casos, contrario a lo que sucede en *P. viridis*. Debido a dicha variabilidad se estableció que *M. trautwineana* es más resistente que *P. viridis*.

Lo anterior se evidencia al comparar los resultados obtenidos después del tratamiento con CuSO_4 a 1 ppm en el primer y segundo ensayo. En la especie *M. trautwineana*, el compuesto generó el 80 y 50 % de mortalidad respectivamente. Así mismo, la DL50 264 h es menor en el primer experimento (0,55 ppm de CuSO_4 libre) que en el segundo (1,3 ppm de CuSO_4 libre). Por el contrario, *P. viridis* presentó el 94 y 96 % de mortalidad en cada uno de los casos. La DL50 264 h fue también muy similar; 0,18 y 0,1 respectivamente. La razón de estas diferencias se desconoce, pero puede estar relacionada al estado fisiológico de los mejillones. Por tal razón, fue necesario ensayar métodos de control alternativos, entre éstos el CuSO_4 encapsulado al 30 %, biobalas nacionales a un menor costo.

Aunque las concentraciones evaluadas fueron bajas, los resultados en ambas especies son buenos. En *M. trautwineana* el porcentaje de mortalidad fue mayor que con CuSO_4 libre, logrando el 40 % a 2 ppm de biobalas (0,6 ppm de CuSO_4). Una concentración similar de CuSO_4 (0,5 ppm) generó una mortalidad menor al 10 % en dicha especie. En *P. viridis* los resultados fueron muy similares, alcanzando el 80 % de mortalidad a 1,5 ppm de biobalas, equivalente a 0,45 ppm de CuSO_4 libre. En ensayos anteriores, una concentración de 0,5 ppm de CuSO_4 produjo aproximadamente el 84,5 % de mortalidad. La DL50 264 h fue 0,12 ppm de biobalas, concentración similar a la obtenida con las biobalas de CuSO_4 al 20 % (0,11 ppm de biobalas) y con CuSO_4 libre en el primer y segundo experimento (0,18 y 0,1 ppm de CuSO_4 respectivamente). Lo anterior confirma que la respuesta de esta especie frente al tratamiento con CuSO_4 , ya sea encapsulado o libre, es constante.

Otro método de control fue el mejoramiento de la efectividad del tratamiento con CuSO_4 libre adicionándole ácido cítrico. Comúnmente éste es utilizado como quelante del cobre, incrementando su solubilidad y tiempo residual en el agua. Estos ligandos orgánicos se degradan rápidamente por bacterias de las piscinas, y no son acumulables en plantas y animales (Boyd y Massaut, 1999). Algunas compañías producen cobre quelado, aunque es más costoso, ya que argumentan es más efectivo que el sulfato de cobre en aguas con una alcalinidad moderada o alta y es menos tóxico para peces en agua con baja alcalinidad Masuda y Boyd, 1993).

El tratamiento no generó un control efectivo en *M. trautwineana*, alcanzando el 50 % de mortalidad a una relación 10:1 (ácido cítrico: CuSO_4). La respuesta de *P. viridis* continúa siendo constante, logrando el 100 % de mortalidad en todos los casos. Los resultados obtenidos no presentaron diferencias estadísticas significativas entre el tratamiento con CuSO_4 y las diferentes relaciones (10:1 y 10:4) evaluadas en ambas especies, argumentando que para éstas, la quelación del cobre, en las relaciones estudiadas, no mejora su efectividad.

Se evaluó también el método de aplicación alternativo por pulso y dosificación por tres días para el tratamiento con CuSO_4 al 1 % de la alcalinidad en *M. trautwineana*. Esta concentración se estableció ya que se ha comprobado que evita la toxicidad para otros organismos como peces en ambientes de baja alcalinidad (Boyd y Massaut, 1999, Huggett *et al.*, 2001). La efectividad del tratamiento no presentó diferencias significativas entre los métodos, en ambos casos se generó el 100 % de mortalidad.

Tratamiento alternativo

La cloración con hipoclorito de sodio, es una de las técnicas más utilizadas en el control de los bivalvos por las siguientes razones: (1) efecto directo sobre los

organismos adultos (2) inhibición del asentamiento y crecimiento de las larvas (3) debilitamiento del mecanismo de adhesión al sustrato (4) disponibilidad a un relativamente bajo costo y (5) fácil sistema de dosificación (Masilamoni *et al.*, 2002).

Normalmente el control con este biocida se realiza en sistemas de flujo continuo, donde la dosis es aplicada periódica o continuamente (Rajagopal *et al.*, 2005). El cloro actúa en los organismos a nivel de órganos, celular y subcelular, matando dependiendo de la concentración de la dosis y la duración del tratamiento. Se ha demostrado que en mejillones la cloración afecta la tasa de bombeo, alimentación, apertura de las valvas y la producción del biso, por esto, la tasa de crecimiento se reduce. Sin embargo, estos organismos son capaces de protegerse de la acción del químico cerrando sus valvas (Rajagopal *et al.*, 2003).

La efectividad del tratamiento depende de varios factores, especialmente los niveles de cloro residual y el tiempo de contacto. Está comprobado que para lograr un 100 % de mortalidad con el tratamiento es necesario que éste sea de manera continúa, ya que los mejillones están obligados a cerrar sus valvas y sobrevivir con las reservas almacenadas de manera anaeróbica, hasta el punto en que éstas se agoten o los desechos metabólicos alcanzan niveles tóxicos. De no ser así, es decir, de manera periódica, estos organismos son capaces de alimentarse durante los periodos de no cloración, como también de producir filamentos del biso. Para la especie *P. viridis* se ha reportado un 100 % de mortalidad en 816 h a una concentración de 1 ppm de cloro residual aplicado continuamente. No existen datos para *M. trautwineana*, pero en *M. leucophaeata*, especie perteneciente a la misma familia, tarda 1104 h en alcanzar el 100 % de mortalidad a 1 ppm de cloro residual (Rajagopal *et al.*, 2003).

En la finca camaronera C.I. OCEANOS S.A., la cloración se realiza con el fin de eliminar depredadores y competidores en tablas, filtros, estructuras de entrada

como también de salida, así mismo, en los pozos de agua que se forman frente a éstas últimas, y que son imposibles de secar con bombas de achique. Debido a que es muy difícil calcular el volumen de cada uno de estos charcos, se estandarizó una dosis de 15 a 20 Kg por piscina, dependiendo de la decisión del personal de campo. Sin embargo, como se observó en los acuarios experimentales, la aplicación de una sola dosis no es suficiente para regular las poblaciones de mejillón, incluso a 50 ppm, cuando normalmente se emplean concentraciones entre 1-3 ppm de cloro residual de manera continua (Rajagopal *et al.*, 2003). Adicionalmente, mantener un flujo constante de cloro durante varios días para cada una de las piscinas cosechadas implicaría un costo muy alto, y se requeriría de trabajadores que monitorearan constantemente la concentración de cloro residual mediante los diferentes métodos, razones por las cuales este método de control no resulta viable.

Ensayos con camarones

Aunque es posible que algunos organismos absorban el cobre, la concentración en los tejidos no es mayor de la que se encuentra en condiciones normales (Boyd y Massaut, 1999).

De acuerdo a los resultados del experimento, se comprobó que las concentraciones evaluadas no son tóxicas para *L. vannamei*, esto debido a la capacidad de los crustáceos decápodos de regular en cierta medida elementos traza como el cobre (Masuda y Boyd, 1993). Adicionalmente, transportan el oxígeno a través de la hemocianina (Hc), una proteína que contiene cobre. Esta está presente en altas concentraciones en crustáceos, abarcando el 90-95 % del total de proteínas en el plasma del camarón blanco (Figuerola-Soto *et al.*, 1997 y Su-Tuen *et al.*, 2004). Sin embargo, este compuesto puede afectar peces y otros organismos acuáticos que existan en el ambiente externo a las piscinas.

10.3.2. Ensayos en piscinas.

Cajas

A partir de los compuestos evaluados como medidas de control químico, se concluyó que el CuSO_4 libre a partir del 0,5 ppm es efectivo para el control de *P. viridis*. En *M. trautwineana* no se logró establecer la concentración adecuada para su control, sin embargo se decidió trabajar con una cantidad equivalente al 1 % de la alcalinidad, según lo recomendado por Boyd y Massaut (1999) como también Huggett *et al.*, (2001), evitando así la toxicidad para otros organismos.

Una vez se demostró en acuarios que el CuSO_4 no implica ninguna amenaza para la sobrevivencia de los camarones, se decidió aplicar el tratamiento en piscinas que presentaran problemas de infestación de mejillón.

La efectividad del tratamiento presentó variaciones en los resultados dentro y entre piscinas, esto podría ser explicado como un problema técnico por una no adecuada distribución y homogenización del producto o por un problema ambiental o fisiológico de los mejillones que no se ha logrado identificar.

10.3.3. Parámetros productivos del camarón *L. vannamei* en piscinas tratadas con sulfato de cobre.

El tratamiento con sulfato de cobre no solo ha favorecido el control de mejillón en las piscinas, los beneficios de éste se ven reflejados en mejoras en el crecimiento semanal (g/semana) del camarón blanco.

Los decápodos presentan una amplia gama de hábitos y dietas alimenticias, aunque la mayoría de las especies combina la alimentación depredadora con la ingesta de

carroña. La importancia relativa de las dos modalidades varía según las especies y la disponibilidad de las distintas fuentes alimenticias (Ruppert y Barnes, 1996).

Debido a la acción del cobre sobre los mejillones, el cual deforma las branquias e inhibe la contracción del músculo aductor, se genera una pérdida en la capacidad de reaccionar cerrando las valvas ante cualquier estímulo. Los camarones, clasificados como omnívoros oportunistas por su amplia gama de enzimas digestivas, (Lovett y Felder, 1990), se aprovechan del estado de vulnerabilidad de los mejillones después de la aplicación de CuSO_4 y los consumen, adquiriendo de esta manera gran cantidad de proteína animal, lo cual le permite crecer más rápido que con el concentrado utilizado habitualmente para su alimentación.

10.3.4. Variación de la turbidez en piscinas después de la aplicación de CuSO_4

Las piscinas altamente invadidas de mejillón se caracterizan por presentar un color verde transparente debido a la eliminación del fitoplancton de la columna de agua por parte de estos animales filtradores (Durán *et al.*, 2007). Por el contrario, piscinas con un bajo o nulo nivel de infestación, se diferencian por un color café verdoso fuerte debido a la concentración de algas, principalmente diatomeas, que contiene.

La aplicación del sulfato de cobre como control del mejillón, permite a su vez la recuperación del bloom algal, medida a través de la disminución en el nivel del disco secchi. Devolviéndole a las piscinas la turbidez requerida para el óptimo desarrollo de los camarones, evitando así la proliferación de algas y macrófitas acuáticas, predación por las aves y el estrés en los camarones, la que genera su desplazamiento hacia el fondo donde las altas poblaciones de mejillón dificultan su alimentación.

Es posible aumentar la turbidez para evitar el estrés de los camarones utilizando mayor cantidad de fertilizante NKP, sin embargo, esta solución es temporal debido a que los mejillones presentan un sistema de filtración muy eficiente, aumentando la transparencia del agua.

11.CONCLUSIONES

Seguimiento en Piscinas y Reservorios

No se logró establecer con exactitud cuáles son las variables que influyen en la presencia de mejillón en las piscinas y reservorios.

Colonización de Mejillón en Piscinas Camaroneras

El tiempo promedio que ocurre entre el asentamiento de larvas de mejillón a las cuerdas de fijación y su transformación en un animal adulto, es de aproximadamente un mes.

La colonización de larvas de mejillón en las piscinas ocurre en ciclos diferentes de ingreso.

Parámetros Productivos de Camarón en Piscinas Infestadas y no Infestadas

La presencia de mejillón en las piscinas analizadas influye en la baja productividad (Kg/Ha/día) presentada y el elevado factor de conversión alimenticia. Existe una tendencia a una disminución en la sobrevivencia y crecimiento de las piscinas infestadas.

Control Químico

Las biobalas de sulfato de cobre al 20 y 30 % y el CuSO_4 libre no evidencian diferencias significativas en el control de la especie *P. viridis*.

Las biobalas de CuSO_4 al 30 % resultaron ser una buena opción para el control de la especie *M. trautwineana*.

No se observó un incremento en la efectividad del tratamiento con CuSO_4 libre mediante la adición de ácido cítrico en las relaciones 10:1 y 10:4. Tampoco a través de los diferentes métodos de dosificación evaluados.

El tratamiento con CuSO_4 libre a 1; 1,5 y 2 ppm no afecta negativamente a los camarones *L. vannamei*, por tal razón, se decidió implementar el tratamiento en piscinas al 1 % de la alcalinidad total del agua, según lo recomendado por la literatura.

Las biobalas de amina cuaternaria al 20 % no fueron efectivas sobre las especies de mejillón estudiadas.

La aplicación de hipoclorito de calcio (HTH) de manera periódica no es un método químico efectivo para el control de las especies *M. trautwineana* y *P. viridis* en las piscinas camaroneras cosechadas.

A través de los diferentes ensayos realizados, no se logró establecer con exactitud un método de control efectivo contra la especie *M. trautwineana*, debido a que la respuesta de ésta no fue consistente.

Ensayos en Piscinas

Aunque no existe una tendencia clara en relación a la efectividad del tratamiento con CuSO_4 en términos de porcentaje de mortalidad del mejillón, dentro y entre piscinas, la aplicación de este químico mejora las condiciones de las piscinas, lo cual se evidencia en el incremento del crecimiento semanal y acumulado del camarón, igualmente en el aumento de la turbidez del agua.

En relación a los aspectos económicos del proceso, el costo del CuSO_4 no es representativo si se comparan con las pérdidas que presenta la camaronera por las bajas en la productividad.

12.RECOMENDACIONES

Se recomienda realizar nuevamente un seguimiento de las poblaciones adultas, ya que aunque la cuerdas utilizadas como sustrato de fijación resultaron efectivas, durante el monitoreo fue posible observar que otros materiales como el neumático o balizas resultaron más propensas a la fijación de estos bivalvos.

En el presente estudio no fue posible incluir el seguimiento de los estadíos larvales de mejillón ya que la mayoría de los datos en las matrices llevadas en la finca eran cero. Se considera necesario evaluar otras formas de captura de larvas para así poder realizar un seguimiento a las poblaciones.

Si bien el presente trabajó contribuyó a establecer un método efectivo de control contra la especie invasora de mejillón *P. viridis*, es importante enfocar futuros estudios a la estandarización de una técnica de control sobre la especie *M. trautwineana*. En vista de los buenos resultados obtenidos con las biobalas de sulfato de cobre al 30 % a bajas concentraciones en ambas especies, se recomienda continuar con ensayos a mayores concentraciones, sin sobrepasar los límites establecidos como no tóxicos.

Se recomienda que se realice un estudio de factibilidad económica, para saber si de acuerdo a los costos de las biobalas pueden ser utilizadas.

Es necesario realizar estudios que generen información sobre la biología de la especie *M. trautwineana*, ya que ésta es casi nula. Adicionalmente, de esta manera sería más sencillo aplicar técnicas de control apropiadas.

13. BIBLIOGRAFÍA

- Ackerman, J. F. 1995. Zebra mussel life history. Proceedings of the fifth international zebra mussel and other aquatic nuisance organisms conference. 8 p.
- Aguilera, M. M. 2006. El Canal del Dique y su subregión: una economía basada en la riqueza hídrica. Documentos de trabajo sobre economía regional. Banco de la República. No. 72. 87 p.
- Aldridge, D. W., Payne, B. S. y Miller, A. C. 1995. Oxygen consumption, nitrogenous excretion, and filtration rates of *Dreissena polymorpha* at acclimation temperatures between 20 and 32 °C. Can. J. Fish. Aquat. Sci. Vol. 52. 1761-1767 p.
- Aldridge, D. C., Elliot, P. y Moggridge, G. 2006. Microencapsulated biobullets for the control of biofouling zebra mussels. Environ. Sci. Technol. Vol. 40. 975-979 p.
- Aldridge, D. C., Salazar, M., Serna, A. y Cock, J. 2008. Density-dependent effects of a new invasive false mussel, *Mytilopsis trautwineana* (Tryon 1866), on shrimp, *Litopenaeus vannamei* (Boone 1931), aquaculture in Colombia. Aquaculture. Vol. 281. 34-42 p.
- Bij de Vaate, A. 1991. Distribution and aspects of population dynamics of the zebra mussel, *Dreissena polymorpha* (Pallas, 1771), in the lake IJsselmeer area (The Netherlands). Oecología. Vol. 86. 40-50 p.

- Boyd, C. E. y Massaut L. 1999. Risk associated with the use of chemicals in pond aquaculture. *Aquacultural Engineering*. Vol. 20. Issue 2. 113- 132 p.
- Brown, B. E. y Newell, R. C. 1972. The effect of copper and zinc on the metabolism of the mussel *Mytilus edulis*. *Marine Biology*. Vol. 16. 108-118 p.
- Campbell, M. L., Gould, B. y Hewitt, C. L. 2007. Survey evaluations to assess marine bioinvasions. *Marine Pollution Bulletin*. Vol. 55. 360-378 p.
- Carlton, J. T. 2001. Introduced species in U.S. coastal waters: environmental impacts and management priorities. Pew Oceans Commission, Arlington, Virginia, USA.
- Cataldo, D., Boltovskoy, D. y Pose, M. 2002. Control del molusco incrustante *Limnoperna fortunei* mediante el agregado de moluscicidas al agua. Tercera jornada sobre la conservación de la fauna íctica en el río Uruguay. 5 p.
- Chee, K. Y., Soon, G. T., Ahmad, I. y Hishamuddin, O. 2002. Genetic variation of the green-lipped mussel *Perna viridis* (L.) (Mytilidae: Mytiloida: Mytilicae) from the West Coast of Peninsular Malaysia. *Zoological Studie*. Vol. 41 (4). 376-387 p.
- Claudi, R. y Mackie, G. L. 1994. Practical manual for zebra mussel monitoring and control. *Journal of the North American Benthological Society*. Vol. 13. No. 13. 411-412 p.
- De la Vega, E., O’Leary, N., Shockey, J. E., Robalino, J., Payne, C., Browdy, C. L., Warr, G. W. y Gross, P. S. 2008. Anti-lipopolysaccharide factor in *Litopenaeus vannamei* (LvALF): a broad spectrum antimicrobial peptide

essential for shrimp immunity against bacterial and fungal infection. *Molecular Immunology*. Vol. 45. 1916-1925 p.

- Díaz, J. M. y Puyana, M. 1994. Moluscos del Caribe Colombiano. COLCIENCIAS- FUNDACIÓN NATURA- INVEMAR. Editorial Presencia. Colombia. 291 p.
- Durán, C., Viamonte, A., Bernat, Y., Díez-Antoñanzas, L., Jiménez, C. y Anadón, A. 2007. Mejillón cebrá en aguas de la cuenca del Ebro. *Ambienta*. 44-50 p.
- Elfving, T. y Tedengren, M. 2002. Effects of copper on the metabolism of three species of tropical oysters, *Saccostrea cucullata*, *Crassostrea lugubris* and *C. belcheri*. *Aquaculture*. Vol. 204. 157-166 p.
- ENTREVISTA con el Dr. David Aldridge, Departamento de Zoología de la Universidad de Cambridge. Cartagena de Indias, 2009.
- Espinal, C. F., Martínez, H. J. y González, F. A. 2005. La cadena del camarón de cultivo en Colombia, una mirada global de su estructura y dinámica 1991-2005. Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural Observatorio Agrocadenas Colombia. Documento de trabajo No. 70. Bogotá, Colombia. 23 p.
- Figueroa-Soto, C. G., Calderón-De la Barca, A. M., Vásquez-Moreno, L., Higuera-Ciapara, I. y Yepiz-Plascencia, G. 1997. Purification of Hemocyanin from white shrimp (*Penaeus vannamei* Boone) by immobilized metal affinity chromatography. *Comp. Biochem. Physiol.* Vol. 117B. No. 2. 203-208 p.
- Fogh Vinther, H. y Holmer, M. 2008. Experimental test of biodeposition and ammonium excretion from blue mussels (*Mytilus edulis*) on eelgrass

(*Zostera marina*) performance. Journal of Experimental Biology and Ecology. Vol. 364. 72-79 p.

- García-L, Y., Prieto, A., Marcano, J., Lodeiros, C. y Arrieché, D. 2005. Producción secundaria del mejillón verde (*Perna viridis* L. 1758), en la península de Araya, Venezuela. Revista científica, FCV-LUZ. Vol. 15. No. 3. 252-262 p.
- Google Earth versión 4.3.7284.3916 (beta) para Microsoft Windows Vista (Service Pack 0). 2008
- Hewitt, C. L. y Campbell, M. L. 2007. Mechanisms for the prevention of marine bioinvasions for better biosecurity. Marine Pollution Bulletin. Vol. 55. 395-401.
- Hicks, D. W. y McMahon, R. F. 2002. Respiratory responses to temperature and hypoxia in the nonindigenous brown mussel, *Perna perna* (Bivalvia: Mytilidae), from the Gulf of Mexico. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology. Vol. 277. 61-78 p.
- His, E., Robert, R. y Donet, A. 1989. Combined effects of temperature and salinity on fed and starved larvae of the Mediterranean mussel *Mytilus galloprovincialis* and the Japanese oyster *Crassostrea gigas*. Marine Biology. Vol. 100. 455-463 p.
- Huggett, D. B., Schlenk, D. y Griffin, B. R. 2001. Toxicity of copper in an oxic stream sediment receiving aquaculture effluent. Chemosphere. Vol. 44. 361-367 p.

- Kramer, K. J. M., Jenner, H. A. y De Zwart, D. 1989. The valve movement response of mussels: a tool in biological monitoring. *Hydrobiologia*. 188/189. 433-443 p.
- Lafferty, K. D. y Kuris, A. M. 1996. Biological control of marine pests. *Ecology*. Vol. 77. No. 7. 1989-2000 p.
- Lee, S. Y. 1986. Growth and reproduction of the green mussel *Perna viridis* (L.) (Bivalvia: Mytilacea) in contrastin environments in Hong Kong. *Asian Marine Biology*. Vol. 3. 111-127 p.
- Lee, H. H., Lemma, A. y Bennett, H. J. The use of Endod (*Phytolacca dodecandra*) to control the zebra mussel (*Dreissena polymorpha*). En: Nalepa, T. F. y Schloesser, D. W. Zebra mussels: biology, impacts and control. United States of America: Lewis Publishers, 1993. 643-655 p.
- Lovett, D. L. y Felder, D. L. 1990. Ontogenic changes in enzyme distribution and midgut function in developmental stages of *Penaeus setiferus* (Crustacea, Decapoda, Penaeidae). *Biol. Bull*. Vol. 178. 160-174 p.
- Mackie, G. L. 1991. Biology of the exotic zebra mussel, *Dreissena polymorpha*, in relation to native bivalves and its potential impact in Lake St. Clair. *Hidrobiologíá*. Vol. 219. 251-268 p.
- Mackie, G. L. 1996. Comparative biology of zebra mussel in Europe and North America: an overview. *Amer. Zool*. Vol. 36. 244-258 p.

- Malave, C. J. y Prieto, A. S. 2005. Producción de biomasa en el mejillón verde de localidad de la Península de Araya, Venezuela. INCI. Vol. 30. No. 11. 699-705 p.
- Martin, I. D., Mackie, G. L. y Baker, M. A. 1993. Control of the biofouling mollusc, *Dreissena polymorpha* (Bivalvia: Dreissenidae) with sodium hypochlorite and with polyquaternary ammonia and benzothiazole compounds. Archives of Environmental Contamination and Toxicology. Vol. 24. 381-388 p.
- Masilamoni, G., Jesudoss, K. S., Nandakumar, K., Satapathy, K. K., Azariah, J. y Fair, K. V. K. 2002. Letal and sub-lethal effects of chlorination on green mussel *Perna viridis* in the context of biofouling control in a power plant cooling water system. Marine Environmental Research. Vol. 53. 65-76 p.
- Ministerio del Medio Ambiente. Sin fecha. Guía ambiental para el subsector camaronicultor. Asociación Nacional de Acuicultores de Colombia. Corporaciones Autónomas Regionales. Banco Interamericano de Desarrollo. 93 p.
- McEnnulty, F. R., Bax, N. J., Schaffelke, B. y Campbell, M. 2001. A review of rapid response options for the control of ABWMA listed introduced marine pest species and related taxa in Australian waters. CSIRO Marine Research. Centre for research on introduced marine pests. Technical report No. 23. 101 p.
- Morton, B. 1981. The biology and functional morphology of *Mytilopsis sallei* (Recluz) (Bivalvia: Dreissenacea) fouling Visakhapatnam harbour, Andhra Pradesh, India. J. moll. Stud. Vol. 47. 25-42 p.

- Neil, K. M., Hilliard, R., Russell, B. y Clark, P. 2008. Introduced marine species: Management arrangements of consideration for the Torres Strait. Continental Shelf Research. Vol. 28. 2317-2323 p.
- Nicholson, S. 2002. Ecophysiological aspects of cardiac activity in the subtropical mussel *Perna viridis* (L.) (Bivalvia: Mytilidae). Journal of Experimental Marine Biology and Ecology. Vol. 267. 207-222 p.
- Nuttall, C. P. 1990. Review of the caenozoic heterodont bivalve superfamily Dreissenacea. The Paleontological Association. Paleontology. Vol. 33. Part 3. 707-737 p.
- O'Neill Jr., C. R. y MacNeill, D. B. 1991. The zebra mussel (*Dreissena polymorpha*): an unwelcome North American Invader. Sea Grant. Cornell Cooperative Extension. State University of New York. Fact Sheet.
- Pathy, D. A. y Mackie, G. L. 1993. Comparative shell morphology of *Dreissena polymorpha*, *Mytilopsis leucophaeata*, and the "quagga" mussel (Bivalvia: Dreissenidae) in North America. Can. J. Zool. Vol. 71. 1012-1023 p.
- Power, A. J., Walker, R. L., Payne, K. y Hurley, D. 2004. First occurrence of the nonindigenous green mussel, *Perna viridis* in coastal Georgia, United States. Journal of Shellfish Research. Vol. 23. 741-744 p.
- Puyana, M. 1995. Aspectos biológicos y ecológicos de *Mytilopsis sallei* (Recluz, 1849) (Bivalvia: Dreissenidae) en bancos de ostra de la Ciénaga Grande de Santa Marta, Caribe Colombiano. An. Inst. Invest. Mar. Punta Betín. Vol. 24. 39-53 p.

- Rajagopal, S., Van Der Velde, G., Jenner, H. A., Van Der Gaag, M. y Kempers, A. J. 1996. Effects of temperature, salinity and agitation on byssus thread formation of zebra mussel *Dreissena polymorpha*. Netherlands Journal of Aquatic Ecology. Vol. 30. No. 2-3. 187-195 p.
- Rajagopal, S., Venugopalan, V. P., Nair, K. V. K., Van der Velde, G., Jenner, H. A., Den Hartog, C. 1998. Reproduction, growth rate and cultura potencial of the green mussel, *Perna viridis* (L.) in Edaiyur backwaters, east coast of India. Aquaculture. Vol. 162. 187-202 p.
- Rajagopal, S., Van der Velde, G., Van der Gaag, M. y Jenner H. A. 2003. How effective is intermittent chlorination to control adult mussel fouling in cooling water systems? Water Research. Vol. 37. 329-338 p.
- Rajagopal, S., Van der Velde, G., Van der Gaag, M. y Jenner, H. A. 2005. Byssal detachment underestimates tolerance of mussels to toxic compounds. Marine Pollution Bulletin. Vol. 50. 20-29 p.
- Ramachandra, P., Mangapathi, K., Ganti, S. S. y Kalyanasundaram, N. 1975. Effect of extreme salinity conditions on the survival of *Mytilopsis sallei* Recluz (Pelecypoda). Hydrobiologia. Vol. 46. No. 2-3. 199-206 p.
- Restrepo, J. D. y Kjerfve, B. 2000. Magdalena river: interannual variability (1975-1995) and revised water discharge and sediment load estimates. Journal of Hydrology. Vol. 235. 137-149 p.
- Ruppert, E. E. y Barnes, R. D. 1996. Zoología de los invertebrados. Sexta Edición. Editorial McGraw-Hill Interamericana. México. 1114 p.

- Sánchez, C. J. 2004. Comportamiento cíclico de los estadios larvales del mejillón *Mytilopsis sallei* (Recluz, 1849) en la finca C.I. OCEANOS S.A. de la Isla del Covado- Cartagena. Trabajo de grado (Biólogo Marino). Universidad de Bogotá Jorge Tadeo Lozano. Facultad de Ciencias Naturales. Programa de Biología Marina. 73 p.
- Stangel, P. 2004. Lake Champlain 2003 zebra mussel monitoring program. Vermont Department of Environmental Conservation. Waterbury, Vermont. 20 p.
- Su-Tuen, Y., Chun-Hung, L. y Jiann-Chu, C. 2004. Effect of copper sulfate on the immune response and susceptibility to *Vibrio alginolyticus* in the white shrimp *Litopenaeus vannamei*. Fish and Shellfish Immunology. Vol. 17. 437-446 p.
- Tan, K. S. y Morton, B. 2006. The invasive Caribbean bivalve *Mytilopsis sallei* (Dreissenidae) introduced to Singapore and Johor Bahru, Malaysia. The Raffles Bulletin of Zoology. Vol. 54. No. 2. 429-434 p.
- Van Hullebusch, E., Deluchat, V., Chazal, P. M. y Baudu M. 2002. Environmental impact of two successive chemical treatments in a small shallow eutrophied lake: part II. Case of copper sulfate. Environmental Pollution. Vol. 120. 627-634 p.
- Verween, A., Vincx, M. y Degraer, S. 2007. The effect of temperatura and salinity of the survival of *Mytilopsis leucophaeata* larvae (Mollusca, Bivalvia): the search for environmental limits. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology. Vol. 348. 111-120 p.

- Verween, A., Vincx, M. y Degraer, S. 2009. Comparative toxicity of chlorine and peracetic acid in the biofouling control of *Mytilopsis leucophaeata* and *Dreissena polymorpha* embryos (Mollusca, Bivalvia). International Biodeterioration and Biodegradation. Vol. 63. 523-528 p.
- Villafranca, S. y Jiménez, M. 2006. Comunidad de moluscos asociados al mejillón verde *Perna viridis* (Mollusca: Bivalvia) y sus relaciones tróficas en la costa norte de la Península de Araya, Estado de Sucre, Venezuela. Rev. Biol. Trop. Vol. 54 (Suppl. 3). 135-144 p.
- Waller, D. L., Rach, J. J., Cope, W. G. y Marking, L. L. 1993. Toxicity of candidate molluscicides to zebra mussels (*Dreissena polymorpha*) and selected nontarget organisms. J. Great Lakes Res. Vol. 19. No. 4. 695-702 p.
- Whittier, T. R., Ringold², P. L., Herlihy, A. T y Pierson, S. M. 2008. A calcium-based invasion risk assessment for zebra and quagga mussels (*Dreissena* spp). Front. Ecol. Environ. Vol 6. No. 4. 180-184 p.