

BIOBULLETS PARA EL CONTROL DE OBSTRUCCIONES DE MEJILLÓN CEBRA EN SISTEMAS DE REGADÍO ESPAÑOLES



INFORME FINAL, DICIEMBRE DE 2011

BioBullets Ltd.



RESUMEN

La obstrucción de sistemas de regadío por parte de bivalvos invasores, como el mejillón cebra (*Dreissena polymorpha*) o la almeja asiática (*Corbicula fluminea*), puede poner en compromiso el suministro de agua a cultivos en la cuenca del Ebro. Hasta el momento, los métodos químicos más utilizados para evitar este problema incluyen el uso de cloro y el empleo de productos basados en el peróxido de hidrógeno.

En el presente estudio se ha ensayado el uso de dos formulaciones diferentes de ingredientes activos microencapsulados (BioBullets), en tuberías obstruidas del sistema de regadío de Móra La Nova, en la cuenca del Ebro. El primer producto, SB1000, se administró a una concentración de 150 mg/l mientras que el segundo, SB2000, fue administrado a 30 mg/l. Ambos productos han pasado las normas de calidad reguladoras para su uso en sistemas de abastecimiento de agua potable en Reino Unido. Así mismo, ambos productos fueron administrados utilizando un sistema automático de calibración durante 8 horas en dos días consecutivos.

El número de organismos vivos, agonizantes y conchas recientemente vacías fue monitoreado tanto antes de la administración del producto como a lo largo de cuatro semanas después. También se recogieron submuestras de bivalvos para su posterior análisis. Los dos productos demostraron ser de extraordinaria eficacia en el exterminio de ambas especies, llegando al 100% de organismos muertos en las muestras recogidas. El mejillón cebra se eliminó más rápidamente utilizando SB1000 que SB2000, aunque ambos productos consiguieron el mismo resultado final. No se observó ninguna diferencia de tamaño en cuanto a los organismos afectados, de lo que se deduce que los productos podrían ser adecuados para el control de cualquier tipo de población que se pudiera encontrar, independientemente del tamaño de los individuos.

No se ha detectado daño alguno de las BioBullets en los cultivos afectados, son seguras de manejar y administrar y requieren un tiempo corto de administración (dos o tres días) al final de cada temporada de crecimiento del mejillón, resultando por tanto un tratamiento especialmente cómodo. Las BioBullets ofrecen una solución viable para el control de la obstrucción por bivalvos en tuberías de riego.

INTRODUCCIÓN

El mejillón cebra está reconocido como una de las plagas con mayores impactos económicos y medioambientales en todo el mundo. Su invasión en Europa occidental (Aldridge et al., 2004) y los Grandes Lagos de Norte América (Hebert et al., 1989) ha conducido a cambios importantes a nivel de ecosistema (MacIsaac, 1996), la eliminación de otras especies de unionidos (Ricciardi et al., 1998) y la obstrucción extensiva de tuberías de abastecimiento en todo tipo de infraestructuras como plantas energéticas, potabilizadoras, sistemas de irrigación, canales de navegación y centros recreativos (Khalanski, 1997). Solamente en Norte América se estima que el mejillón cebra ha costado a la industria alrededor de 1-5 billones de dólares al año (Pimentel et al., 2005). En España, un estudio de la Confederación Hidrográfica del Ebro (www.chebro.es) revela que en la cuenca del río Ebro el mejillón cebra ya ha provocado daños valorados en más de 13 millones de euros desde su aparición.

La llegada del mejillón cebra a la cuenca del río Ebro a principios de 2000 ha suscitado una gran preocupación debido a sus potenciales repercusiones económicas y medioambientales. La obstrucción de sistemas de riego, embalses y otras infraestructuras industriales es enormemente costosa y continuará en aumento; mientras que los impactos sobre el ecosistema, incluyendo especies endémicas amenazadas como la náyade *Margaritifera auricularia*, es de especial preocupación para la conservación. Por tanto, la identificación de estrategias de control del mejillón cebra en las masas de agua en España es de claro interés no sólo económico sino también a nivel medioambiental.

La técnica más popular de control del mejillón cebra en el ámbito industrial es la cloración. Sin embargo, este bivalvo ha demostrado ser capaz de cerrar sus valvas y dejar de alimentarse cuando es expuesto a diversas toxinas, incluyendo el cloro (Claudi & Mackie, 1994). El mejillón puede, de este modo, sobrevivir hasta tres semanas, por lo que la cloración ha de ser continuada durante al menos este periodo. Además, el cloro reacciona con la materia orgánica presente en el agua produciendo elementos carcinógenos (trihalometanos, THM). Por este motivo, el uso de la cloración está perdiendo popularidad, especialmente cuando el agua tratada es para consumo humano o se va a verter directamente a aguas libres.

El control del mejillón cebra en el medioambiente es incluso más problemático por los grandes volúmenes de agua que sería necesario tratar, el riesgo potencial para otras especies y el impacto sobre los servicios a los que daría demanda la masa de agua (como la provisión de agua potable, de riego, zonas de pesca o recreativas).

En los últimos años se han desarrollado numerosas alternativas químicas a la cloración, pero éstas a menudo se centran en el control de la fase de larva velíger en tuberías industriales. En este caso, la dosis de control es relativamente baja dado que la larva velíger es más sensible que el adulto, siendo necesario únicamente que la larva cierre sus valvas de modo que no llegue a adherirse a las paredes de la tubería.

El incremento reciente de casos de obstrucción de sistemas de riego por parte tanto del mejillón cebra como de la almeja asiática, ha llevado a una considerable limitación de la capacidad de suministro de agua en la cuenca del Ebro. Hasta el momento, la solución más aceptada ha sido el uso de cloro o productos basados en el peróxido de hidrógeno.

El objetivo del presente estudio es el ensayo de una tecnología emergente para el control del mejillón cebra y otros bivalvos, las BioBullets o biobalas (Aldridge et al., 2006). Este producto supera las limitaciones de la cloración y el peróxido de hidrógeno y ha demostrado con éxito su eficiencia para el tratamiento de obstrucciones en plantas potabilizadoras de Reino Unido, por lo que ha sido concedido licencia de uso por parte de las autoridades reguladoras inglesas (UK Drinking Water Regulators, DWI). Las BioBullets utilizan la encapsulación de un ingrediente activo en partículas microscópicas de material comestible para el bivalvo. Aprovechando su habilidad natural para filtrar y acumular partículas, el mejillón elimina el producto de la columna de agua sin llegar a estimular el mecanismo de defensa por el cual cierra sus valvas. Gracias a dicha capacidad natural del mejillón para concentrar BioBullets, la dosis de ingrediente activo necesaria para tratar la obstrucción se reduce substancialmente. Las BioBullets están diseñadas por ingeniería para romperse y disolverse completamente en cuestión de horas, por lo que el riesgo de contaminación del ecosistema es mínimo.

METODOLOGÍA

Formulación de la partícula

Las partículas de liberación controlada se desarrollaron comercialmente utilizando un proceso modificado de espray seco (TasteTech Ltd., Bristol, U.K.). En primer lugar se prepara una mezcla primitiva de ingrediente activo y producto encapsulante bajo condiciones de viscosidad controladas. Esta mezcla se bombea a través de una boquilla atomizante ultrasónica hacia una cámara refrigerada. Las partículas atomizadas forman esferas perfectas, que se enfrían a medida que descienden hacia el fondo de la cámara. Un sistema de transporte aéreo sirve para enfriar aún más las partículas antes de su descarga a través de un ciclón en un procesador de lecho fluido. Las partículas encapsuladas de este modo son recubiertas con un tensioactivo no-iónico para ayudar a su dispersión en medio acuoso. Un enfriamiento aún mayor del lecho fluido consigue eliminar todo el calor liberado en la cristalización del producto antes de su empaquetado.

Se desarrollaron dos productos con diferentes ingredientes activos. SB1000 contiene un compuesto de amonio cuaternario. SB2000 a su vez contiene un producto salino que resulta tóxico para el mejillón. Ambos productos han demostrado ser capaces de eliminar con éxito el mejillón cebra en laboratorio y su uso en infraestructuras de abastecimiento potable ha sido aprobado en Reino Unido.

Administración

Los productos fueron aplicados en el sistema de regadío de Móra La Nova, el cual riega 300 Ha de olivos, melocotoneros, cerezos y almendros. En 2010 el principal suministro de agua fue bloqueado debido a la obstrucción por bivalvos, cuya limpieza supuso un gasto de alrededor de 3000€. Dos especies fueron identificadas en el sistema: mejillón cebra (*Dreissena polymorpha*) y almeja asiática (*Corbicula fluminea*).

Se instalaron tomas en dos de las principales tuberías de distribución donde se administró el producto como polvo seco utilizando una bomba centrífuga con sistema venturi. El flujo seleccionado en las tuberías fue de 10.000 l/h. La dosis de producto administrado se controló con exactitud mediante un alimentador vibratorio (Coote Vibratory, UK) que se calibró in situ. SB1000 se administró a 150 mg/l durante 8 horas a lo largo de dos días (10 y 11 de Mayo de 2011) en una longitud de tubería de 5 km. SB2000 por su parte se administró en una tubería diferente de 2 km de longitud a una concentración de 30 mg/l, igualmente durante 8 horas, 2 días (17 y 18 de Mayo de 2011). Un periodo de 8 horas asegura que el producto se distribuye homogéneamente por toda la longitud de la tubería.

Seguimiento

El monitoreo del ensayo se realizó mediante la inspección del material retenido en filtros situados a lo largo de las tuberías tratadas. Un total de tres filtros fueron seleccionados en cada tubería además de un séptimo filtro en una tubería no tratada. Los filtros se vaciaron antes de cada prueba, recogiendo datos justo antes de comenzar las pruebas para contar con datos de referencia. Para mejorar la captura de material, se dejó correr el agua a

través de los filtros en la medida de lo posible. Como la cantidad de agua que atravesaba los filtros cada día variaba considerablemente, en parte debido a los requerimientos de los agricultores, la mejor manera de medir el resultado fue contar el número de ejemplares vivos, agonizantes y conchas recientemente vacías. Los bivalvos vivos son aquellos que cierran o mantienen cerradas sus valvas en respuesta a un ligero golpe en la concha. Los individuos agonizantes no cierran sus valvas en respuesta al golpe y representan los mejillones que han muerto recientemente. Las conchas recientemente vacías son aquellas en las que el contenido tisular del mejillón se ha perdido, pero en las que todavía se aprecia un periostraco brillante y un nácar iridiscente. El monitoreo de ejemplares continuó hasta el 16 de Junio de 2011.

Para investigar la influencia del tamaño en cuanto a la mortalidad de los ejemplares, se midió la longitud máxima de la concha de 30 ejemplares vivos y 30 recientemente muertos en cada ocasión, utilizando un calibre vernier. En caso de no encontrar 30 ejemplares, se midieron todos los ejemplares disponibles.

Una vez el tratamiento fue completado con éxito (el 20 de Mayo de 2011) se introdujo una cámara endoscópica en las tuberías tratadas para visualizar la presencia de mejillón en los primeros 20 m de las mismas.

Análisis estadísticos

La mortalidad se calculó como la proporción de ejemplares vivos comparada con la de individuos agonizantes y vacíos. Se calculó el valor medio y el error estándar de las tres réplicas recogidas a lo largo de cada tubería.

El parámetro de la longitud, tanto de mejillón cebrá como de almeja asiática, mostró una distribución normal (Test de Anderson- Darling, $P > 0.05$). La selectividad por tamaño fue, en consecuencia, investigada mediante el análisis de t-Student al comparar la longitud media de al menos, 30 individuos de cada categoría (individuos de mejillón cebrá y *Corbicula* vivos y recientemente muertos). Valores de $P > 0.05$ demuestran que no existen diferencias significativas en cuanto a la distribución por tamaños de organismos vivos y muertos.

RESULTADOS

Organismos presentes en la obstrucción

Durante la recogida de muestras quedó claro que la obstrucción no estaba causada por mejillón cebrá y almeja asiática únicamente, sino también por algas filamentosas y recrecimientos considerables del hidrozoo *Cordylophora caspia* (Fig. 1). Además, una pequeña proporción de los especímenes recogidos de *Corbicula* eran morfológicamente diferentes y posiblemente representen el primer registro de una nueva especie invasora en la Península Ibérica: *Corbicula fluminalis* (Fig. 2).



Figura 1. Crecimiento masivo del hidrozoo *Cordylophora caspia*, recogido de uno de los filtros.



Figura 2. *Corbicula fluminalis* (?) en la línea superior, en comparación con *C. fluminea* en la línea inferior. Posiblemente un nuevo registro de especie invasora en la Península Ibérica.

Mortalidad

Ambos productos, SB1000 como SB2000, eliminaron de manera efectiva tanto *D. polymorpha* como *C. fluminea* (Fig. 3). Se encontraron ejemplares agonizantes de ambas especies tan solo unos días tras la administración del producto y siguieron siendo recogidos durante aproximadamente una semana, tras la cual las conchas vacías empezaron a ser dominantes. En ambos casos, se registró una variabilidad considerable entre los tres puntos de muestreo, que dieron fluctuaciones a lo largo del tiempo, como se puede observar en las relativamente amplias barras de error (Fig. 3). Es importante tener en cuenta que la interpretación de estas figuras puede llevar a subestimar la mortalidad, dado que algunos organismos no tratados con el producto pudieron haber sido arrastrados hasta los filtros durante el muestreo, procedentes de zonas no expuestas a la acción de las BioBullets.

Con respecto a los dos productos (SB1000 y SB2000), la mortalidad del mejillón cebra parece más rápida que la de *Corbicula*. SB1000 arrojó patrones más variables, alcanzando un 100% de mortalidad en el mejillón cebra tras cuatro días pero estabilizándose en un nivel del 95% de mortalidad tras cuatro semanas. La mortalidad de *Corbicula* se estabilizó tras dos semanas en un 80%. Por su parte, con SB2000 todos los mejillones cebra recogidos estaban muertos tres días después del tratamiento. La mortalidad de *Corbicula* mostró una tendencia en aumento, con un 100% de mortalidad tras cuatro semanas aproximadamente.

La inspección del filtro de control no mostró material de ningún tipo. Esto concuerda con las observaciones experimentales de los filtros realizadas antes de comenzar el tratamiento con BioBullets y sugiere que la mortalidad observada es consecuencia directa de la aplicación del producto.

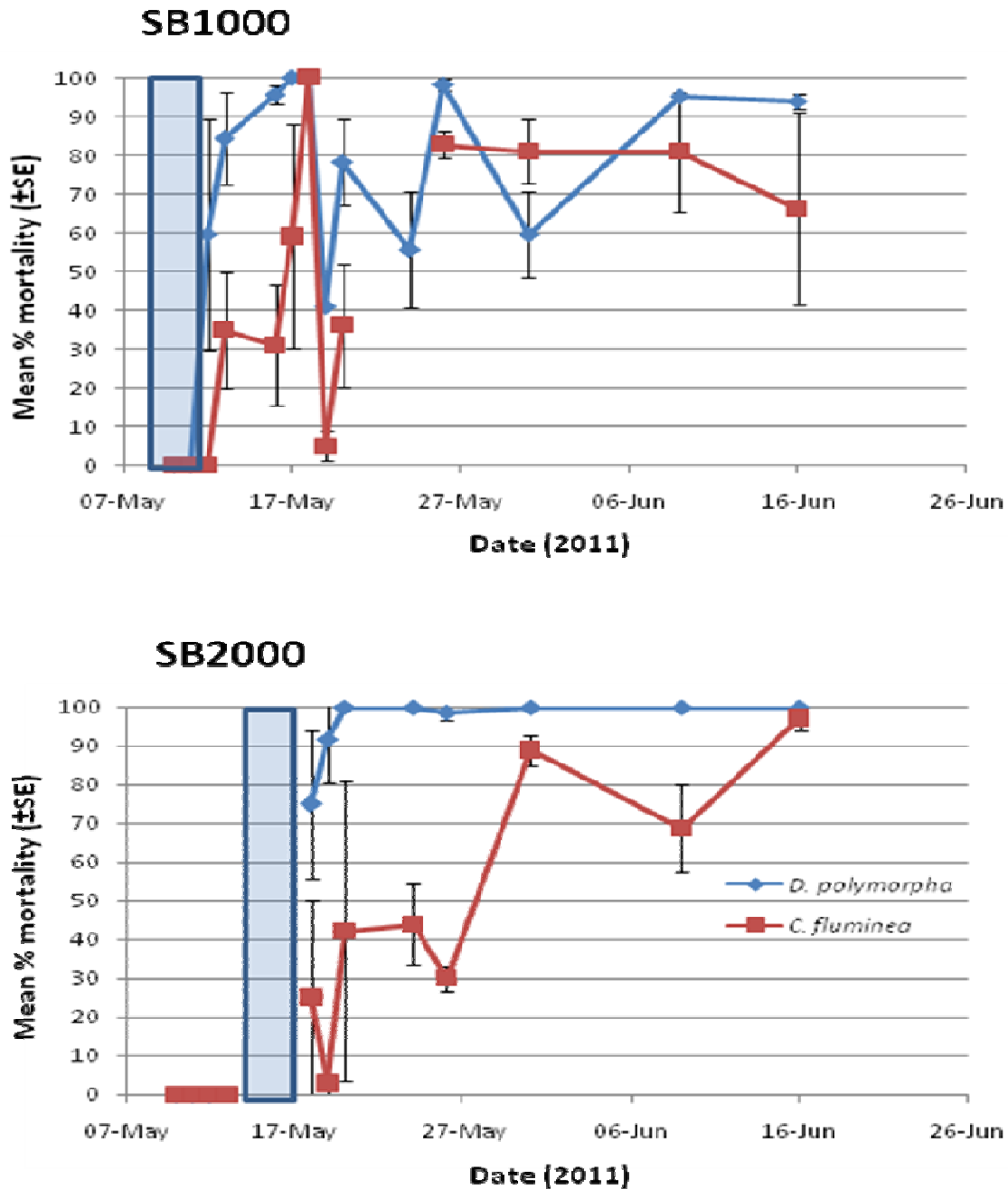


Figura 3. Mortalidad media (porcentaje de ejemplares agonizantes y vacíos en comparación con vivos) de mejillón cebra y *Corbicula* tratados con dos formulaciones de BioBullets (SB1000 y SB2000). La barra azul señala el periodo de administración del producto para los dos tratamientos.

Selección por tamaños

Los especímenes de *Corbicula* mostraron una longitud de entre 7 y 28 mm; mientras que los de mejillón cebra fueron entre 8 y 28 mm. Los de *Corbicula* en la tubería tratada con

SB1000 fueron relativamente pequeños (7-18 mm), reflejando dos cohortes con picos modales de 10 y 15 mm respectivamente. Los mejillones en la tubería tratada con SB1000 fueron de 8 a 27 mm, pero sin distinguirse cohortes. *Corbicula* en la tubería tratada con SB2000 mostró un mayor rango de tamaños (8-28 mm) con una población dominada por los organismos más pequeños. Es interesante notar que la presencia de mejillón fue rara en la tubería tratada con SB2000 y de tamaño muy pequeño.

La frecuencia de tamaños de organismos vivos y muertos (incluyendo agonizantes y recientemente vacíos) fue particularmente parecida. No se encontraron diferencias significativas en cuanto a la distribución de tamaños de mejillones cebra vivos y muertos ($t=0.567$, $df=59$, $P=0.576$), y tampoco en el caso de *Corbicula* ($t=0.360$, $df=65$, $P=0.720$) expuestos a SB1000 (Fig. 4). Lo mismo se encontró para el caso de organismos expuestos a SB2000 (mejillón: $t=0.05$, $df=2$, $P=0.966$; *Corbicula*: $t=0.56$, $df=77$, $P=0.576$) (Fig. 5). Esto confirma que tanto SB1000 como SB2000 fueron capaces de eliminar eficazmente tanto *Corbicula* como mejillón cebra de todos los tamaños, sin apreciarse selección alguna.

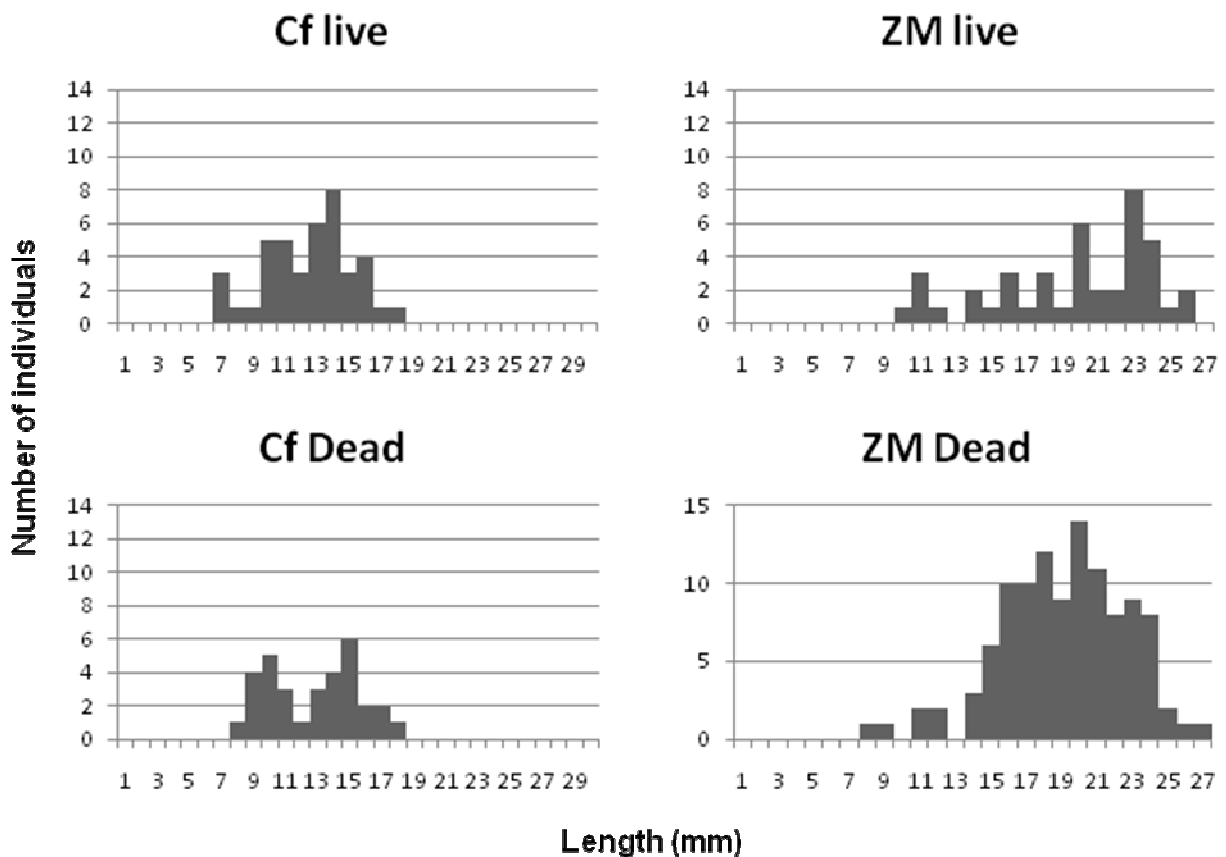


Figura 4. Frecuencia de tamaños observada en los organismos vivos y muertos de mejillón cebra (ZM) y *Corbicula* (Cf) expuestos a SB1000.

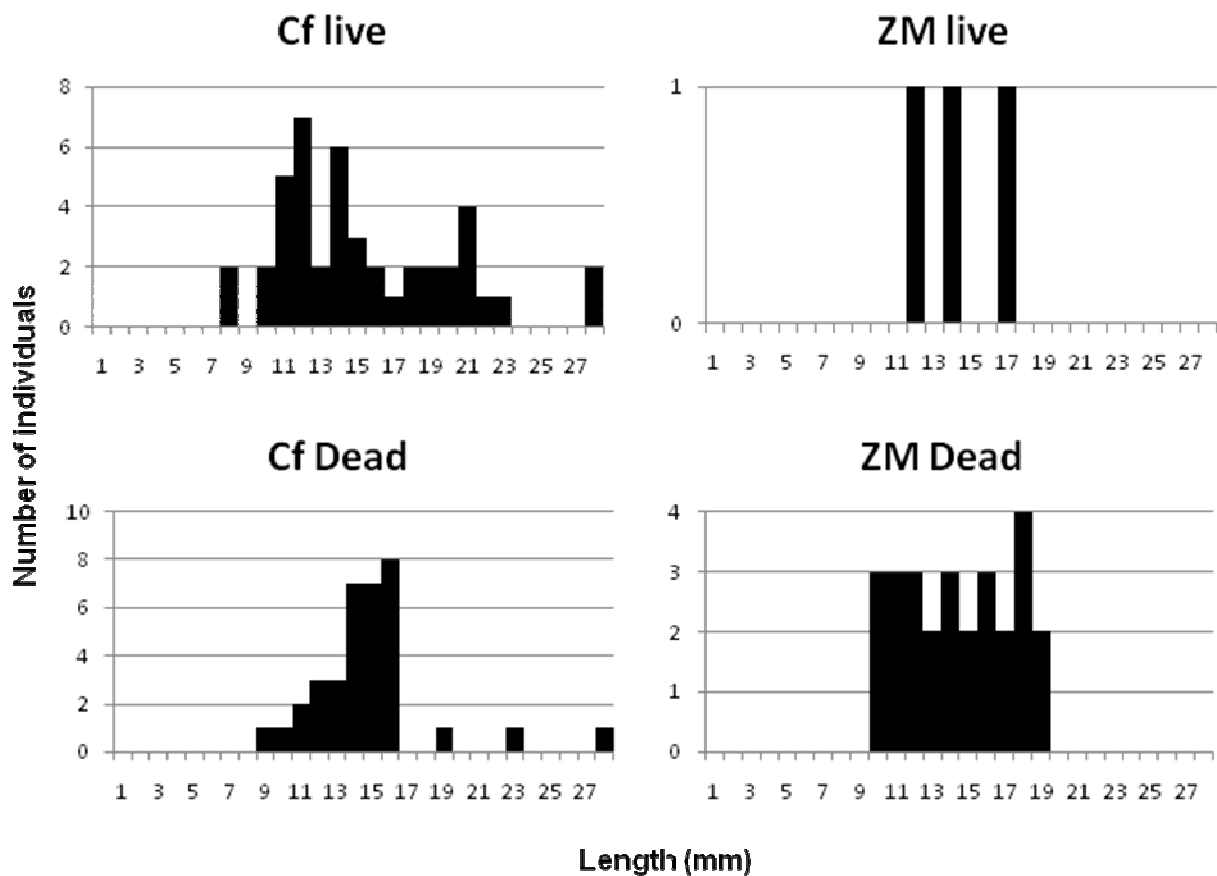


Figura 5. Frecuencia de tamaños observada en los organismos vivos y muertos de mejillón cebra (ZM) y *Corbicula* (Cf) expuestos a SB2000.

Inspección con video

La inspección por medio de cámaras mostró que ambas tuberías contenían pequeñas cantidades de mejillón cebra, pero no de *Corbicula*. La mayor parte de los mejillones se situaron en el cuadrante superior de las tuberías. Dado que no existen datos de referencia en cuanto a los niveles de obstrucción inicial, no es posible situar estas observaciones correctamente en contexto.

DISCUSIÓN

Los ensayos realizados a lo largo de este proyecto tuvieron un gran éxito y mostraron que tanto SB1000 y SB2000 son capaces de exterminar el mejillón cebra y *Corbicula* de las tuberías de regadío. Aunque las BioBullets se habían ensayado con mejillón en el pasado, ésta es la primera vez que se prueba con *Corbicula*. El hecho de que ninguno de los productos fuera selectivo en cuanto al tamaño de los ejemplares eliminados sugiere que los productos pueden ser utilizados para acabar con todo tipo de organismos, desde los más pequeños a los más grandes. Si los productos se administran con frecuencia anual, el tamaño de los bivalvos en las tuberías podría reducirse considerablemente y por tanto, la biomasa del material que conforma la obstrucción.

La administración de los productos no sufrió retrasos ni complicaciones inesperadas. El seguimiento se vio no obstante limitado por el hecho de trabajar en un área de casi 300 agricultores, en los que cada uno requería un riego particular de sus campos de cultivo. Esto dio lugar, en ocasiones, a dificultades en cuanto a la recolección de datos.

La presencia de bajas densidades de mejillón cebra vivo en las tuberías tras el tratamiento puede reflejar varios factores. En primer lugar, el bajo caudal utilizado durante la administración del producto podría haber resultado en un llenado parcial de las tuberías. El mejillón se adhiere a la pared de la tubería a través de su biso, por lo que ocupa toda la circunferencia. *Corbicula* por su parte, no tiene biso y se acumula en el fondo de la tubería. Esto puede haber ocasionado que no todos los mejillones cebra hayan estado expuestos a las BioBullets y explicaría la presencia de mejillones pero no de *Corbicula* en la parte superior de la tubería (observados con la cámara endoscópica). En segundo lugar, en plantas de tratamiento de agua en Reino Unido se ha constatado que la mortalidad es menor en los 20-30 m aguas abajo del punto de tratamiento, ya que el producto se dispersa por completo en el agua a partir de cierta distancia. En tercer lugar, el tratamiento se realizó durante 8 horas en dos días. Durante este tiempo, algunos mejillones pueden haber cerrado sus valvas de forma natural, no estando expuestos a grandes dosis del producto. Este problema se podría solucionar mediante periodos de dosificación más largos.

La presencia continuada de ejemplares vivos de *Corbicula* en los filtros podría ser reflejo de material fresco arrastrado a lo largo de las tuberías desde puntos más abajo del punto de tratamiento. *Corbicula* tiende a ser arrastrado más fácilmente que el mejillón por su falta de biso para adherirse a las paredes de la tubería. Es decir, de nuevo, no todos los ejemplares recogidos en los filtros habrían sido expuestos al producto.

El tratamiento con BioBullets ofrece varias ventajas:

1. Es seguro, fácil de almacenar y manipular
2. No causa daño alguno a los cultivos afectados
3. Puede utilizarse como un tratamiento rápido al final de la temporada de riego, ahorrando en costes operativos y de personal

El presente estudio ofrece evidencias de que tanto SB1000 como SB2000 pueden ser usados como un método de control viable de las obstrucciones ocasionadas por el mejillón cebra en los sistemas de riego.

REFERENCIAS CITADAS

1. Aldridge, D.C.; Elliott, P.; Moggridge, G.D. The recent and rapid spread of the zebra mussel (*Dreissena polymorpha*) in Britain. *Biol. Conserv.* **2004** *119*, 253-261.
2. Aldridge, D.C., Moggridge, G.D. & Elliott, P. A microencapsulated 'BioBullet' for the control of biofouling zebra mussels. *Environ. Sci. Tech.* **2006** *40*, 975-979.
3. Claudi, R. & Mackie, G.L. *Zebra Mussel Monitoring and Control*. Lewis Publishers, Boca Raton. **1994**.
4. Hebert, P.D.; Muncaster, B.W.; Mackie, G.L. Ecological and genetic studies on *Dreissena polymorpha* (Pallas): a new mollusc in the Great Lakes. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **1989** *49*, 1587-1591.
5. Khalanski, M. Industrial and ecological consequences of the introduction of new species in continental aquatic ecosystems: the zebra mussel and other invasive species (1997) *B. Fr. Peche Piscic.* **1997** *345*, 385-404.
6. MacIsaac, H.J. Potential abiotic and biotic impacts of zebra mussels on the inland waters of North America. *Am. Zool.* **1996** *36*, 287-299.
7. Pimentel, D.; Zuniga, R.; Morrison, D. Update on the environmental and economic costs associated with alien-invasive species in the United States. *Ecol. Econ.* **2005** *52*, 273-288.
8. Ricciardi, A.; Neves, R.; Reeders, H.H.; Bij de Vaate, A.; Slim, F.J. The filtration rate of *Dreissena polymorpha* (Bivalvia) in 3 Dutch lakes with reference to biological water quality management. *Freshwater Biol.* **1998** *22*. 133-141.