

Universidad Nacional de La Plata
Facultad de Ciencias Naturales y Museo



Universidad Nacional
de La Plata

**Invasión de *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857). Impacto en el
ambiente natural y humano.**

Patricio Javier Pereyra

TRABAJO DE TESIS PARA OPTAR POR EL TÍTULO DE DOCTOR EN CIENCIAS NATURALES

Director: Gustavo A. Darrigran

Co-director: Cristina Damborenea

La Plata 2011

Dedicatoria

A mi amiga Mirta Araceli Lagreca,
se nos fue antes de tiempo

Agradecimientos

A mis directores, Gustavo Darrigran y Cristina Damborenea, por su paciencia y
sapiencia

A mis viejos. Sin ellos, yo no sería

A Mirta Lagreca, Miriam Maroñas y Gustavo Bulus Rossini. Sin ellos, esta tesis no sería

A mis amigos, me levantan cada vez que me caigo (y a veces recogen los pedazos)

A Nahuel Lombardi, por su apoyo y cero quejas

A Daniela, por su amistad

A Pablo Demetrio, por las noches holístico-epistemológicas

A los compañeros con los que he trabajado y discutido, en la División, en el Inver y en
el laboratorio de Invertebrados

Al laboratorio del SERByDE, por dejarme trabajar en sus instalaciones

Al laboratorio del CIMA, por dejarme trabajar en sus instalaciones

A UNITAN-SAICA, por facilitarme los taninos y brindarme su apoyo para trabajar con
ellos

A Integración Química S.R.L. por facilitarme el aceite de Nim y brindarme su apoyo
para trabajar con ellos

A las instituciones que hicieron esta tesis posible: CONICET, FCNyM-UNLP, FCC-UNLP y
UNS

Al Dr. Nicolas Tamburi, por su ejemplo

Índice

Resumen.....	3
Abstract.....	5
Capítulo I: Introducción	11
1.1 Biología de las invasiones.....	12
1.2 Especies invasoras: definiciones.....	14
1.3 Caso de estudio: el mejillón dorado, <i>Limnoperna fortunei</i>	18
1.3.1 Modo y ciclo de vida.....	18
1.3.2 Características como especie invasora.....	20
1.3.3 Áreas invadidas.....	23
1.4 Hipótesis de trabajo y objetivos de estudio.....	26
1.4.1 Hipótesis de trabajo.....	26
1.4.2 Objetivos de estudio.....	27
1.4.2.1 Objetivo general.....	27
1.4.2.2 Objetivos particulares.....	27
Capítulo II: Aspectos poblacionales de <i>Limnoperna fortunei</i> en un ambiente humano invadido: caso Central Hidroeléctrica Yacyretá.....	28
2.1 Introducción.....	29
2.2 Material y métodos.....	30
2.2.1 Área de estudio	30
2.2.2 Toma de muestras.....	31
2.2.3 Densidad, biomasa y talla media.....	33
2.2.4 Crecimiento individual.....	34

2.3 Resultados.....	35
2.3.1 Densidad, biomasa y talla media.....	35
2.3.2 Crecimiento individual.....	41
2.4 Discusión.....	49
2.4.1 Densidad, biomasa y talla media.....	49
2.4.2 Crecimiento individual.....	52

Capítulo III: Toxicología de compuestos vegetales sobre *Limnoperna fortunei* y su potencial uso como biocidas.....54

3.1 Introducción.....	55
3.2 Material y métodos.....	58
3.2.1 Características de los compuestos.....	59
3.2.1.1 Preparados de taninos.....	59
3.2.1.2 Solución de Aceite de Nim.....	59
3.2.2 Toma de muestras.....	61
3.2.2.1 <i>Limnoperna fortunei</i>	61
3.2.2.2 <i>Daphnia magna</i> , <i>Lactuca sativa</i> y <i>Cnesterodon decemmaculatus</i>	62
3.2.3 Pruebas de toxicidad	62
3.2.3.1 Ensayos con <i>Limnoperna fortunei</i>	62
3.2.3.1.1 Preparado de taninos.....	63
3.2.3.1.2 Solución de aceite de Nim.....	64
3.2.3.2 Ensayos con <i>Daphnia magna</i> , <i>Lactuca sativa</i> y <i>Cnesterodon decemmaculatus</i>	65
3.2.4 Análisis de los resultados	66
3.2.4.1 <i>Limnoperna fortunei</i>	66
3.2.4.2 <i>Daphnia magna</i>	66
3.2.4.3 <i>Lactuca sativa</i>	67
3.2.4.4 <i>Cnesterodon decemmaculatus</i>	67
3.3 Resultados	67

3.3.1 Preparados de taninos.....	67
3.3.2 Solución de aceite de Nim.....	69
3.4 Discusión.....	70
Capítulo IV: Impacto de <i>Limnoperna fortunei</i> sobre <i>Corbicula fluminea</i> (Müller, 1774).....	73
4.1 Introducción.....	74
4.2 Material y métodos.....	77
4.2.1 Área de estudio y toma de muestras	77
4.2.2 Trabajo de laboratorio	78
4.2.3 Descripción de los ensayos.....	80
4.3 Resultados	82
4.4 Discusión.....	83
Capítulo V: Estudio de casos de invasiones de bivalvos dulciacuícolas.....	87
5.1 Introducción.....	88
5.2 Desarrollo.....	91
5.2.1 Comparación entre los procesos de invasión de <i>L. fortunei</i> y <i>Dreissena polymorpha</i>	91
5.2.2 La invasión del mejillón dorado en el marco de la biología de las invasiones	92
Capítulo VI: Discusión general y Conclusiones.....	98
6.1 Discusión General.....	99
6.1.1 El rol de las plantas generadoras de energía en la biología de las invasiones.....	99
6.1.2 El uso de biocidas en el control de especies invasoras.....	101
6.1.3 Interacción entre dos bivalvos invasores: <i>Limnoperna fortunei</i> y <i>Corbicula fluminea</i>	103

6.2 Conclusiones.....	106
Bibliografía citada.....	108
Anexo I.....	143

Resumen

El mejillón dorado, *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857) fue introducido en forma accidental en América del Sur, por el agua de lastre de buques transoceánicos, en los principios de la década del '90. Se trata de una especie gonocórica, dulciacuícola, con fertilización externa, cuya larva veliger vive aproximadamente cuatro semanas en el plancton antes de fijarse a cualquier sustrato duro para convertirse en juvenil. La longevidad de esta especie es de aproximadamente tres años. Este bivalvo es considerado como una especie invasora en la cuenca del Plata. Posee características morfo-funcionales semejantes a las del mejillón cebra, *Dreissena polymorpha* (Pallas, 1771) en el Hemisferio Norte. Ambas especies, cada una en su área de distribución, impactan sobre el funcionamiento de los ecosistemas nativos y obstaculizan el funcionamiento de las plantas industriales que utilizan agua de río cruda en sus sistemas. En este trabajo de tesis se propone establecer las características poblacionales de *L. fortunei* en un ambiente humano invadido (Central Hidroeléctrica Yacyretá); evaluar distintos biocidas de origen orgánico para la prevención/control de *L. fortunei*; y estimar el impacto causado por esta especie sobre la fauna de bivalvos infaunales, en particular sobre *Corbicula fluminea* (Müller, 1774).

Se analizaron muestras recolectadas en dos sectores distintos de la Central Hidroeléctrica Yacyretá (CHY) Se determinó la densidad y biomasa de los individuos asentados en cada sector de la CHY. Se descompusieron las distribuciones de frecuencia de tallas (DFTs) para seguir el crecimiento de las cohortes. Se ajustó el modelo de crecimiento de von Bertalanffy para tres conjuntos de muestras. Los valores de la constante de crecimiento (k) variaron entre 1,39 y 1,60; el largo máximo asintótico (L_{∞}) varió entre 29,47 y 33,68 mm.

Se hallaron diferencias significativas entre sectores en la talla media en ambos períodos de muestreo (primer período, $H = 3434$; $p < 0,000$; segundo período, $H =$

2541; $p < 0,000$). Además se hallaron diferencias significativas en la densidad media total ($H = 6,074$; $p < 0,0137$) y de juveniles ($H = 9,168$; $p < 0,0025$) en el primer período de muestreo y en la biomasa en el segundo período de muestreo ($H = 3,8628$; $p < 0,0494$). Estas diferencias podrían ser explicadas por diferentes velocidades de corriente del agua en los distintos sectores de la CHY.

Se realizaron ensayos de toxicidad aguda con cuatro productos de origen vegetal. Tres productos (ECOTEC®-L, ECOTEC®-MC y ECOTEC®-UA) son preparaciones comerciales de taninos del quebracho colorado (*Schinopsis balansae*), y el cuarto una solución preparada en base al aceite del árbol de Nim (*Azadirachta indica*). En el caso de los productos ECOTEC®, las CL_{50} para estadios larvales variaron entre 138 y 160 mg / L; las CL_{50} para individuos de 13 ± 1 mm variaron entre 160 y 983 mg / L y las CL_{50} para individuos de 19 ± 1 mm variaron entre 442 y 1273 mg / L. En el caso del preparado en base al aceite de Nim, la CL_{50} para estadios larvales fue de 8 μ l / L, y para los distintos estadios adultos variaron entre 122 y 249 μ l / L. Existió superposición entre las CL_{50} calculadas con la solución de aceite de Nim y las especies no blanco y no existió superposición entre las CL_{50} para larvas con productos ECOTEC® y las calculadas para especies no blanco. Sobre la base de estos resultados, se recomienda la utilización de los productos ECOTEC® como larvicidas y el derivado de aceite de Nim en sistemas cerrados.

Se realizaron ensayos en laboratorio para evaluar el efecto producido por la adhesión de *Limnoperna* sobre un bivalvo infaunal: *Corbicula fluminea*. Se llevaron a cabo ensayos en medio controlado con dos proporciones de adhesión distintas. Se hallaron diferencias significativas entre la pendiente de cada ensayo y su respectivo control ($p < 0,05$). La pendiente del ensayo 2 difirió significativamente de cero ($p = 0,0243$). La máxima reducción obtenida en el IC fue de aproximadamente un 20 % con respecto al control en el ensayo 2. Estos ensayos demuestran una disminución de la condición de *C. fluminea* ocasionados por el fouling de *L. fortunei*. Similares resultados caben encontrarse con bivalvos infaunales nativos. Sin embargo deben tomarse recaudos a la hora de extrapolar estos resultados a escalas ecosistémicas dada la corta duración de los ensayos realizados en esta tesis doctoral.

Finalmente, se realizó un análisis bibliométrico sobre las publicaciones realizadas sobre *C. fluminea*, *D. polymorpha* y *L. fortunei* durante el período 1989

hasta la actualidad. Se clasificó a las mismas según la categoría de la publicación. Se hallaron 938 publicaciones con *D. polymorpha*, 90 con *L. fortunei* y 259 con *C. fluminea*. La categoría con mayor cantidad de publicaciones es la observacional, seguida de la experimental. La categoría control y manejo es la menos representada en las tres especies (cero publicaciones para *L. fortunei* y *C. fluminea*, diez para *D. polymorpha*). Se discuten las implicancias de estos resultados en el estudio de *L. fortunei*.

La presente tesis permite concluir: 1) existe variación en el asentamiento de *L. fortunei* relacionadas con las condiciones ambientales en la CHY (extremo vs. centro); 2) las constantes del modelo de crecimiento de von Bertalanffy fueron mayores en la CHY que aquellas estimadas para un clima templado y menores que las estimadas para uno subtropical; 3) los biocidas orgánicos de origen vegetal se presentan como una opción válida de control del asentamiento de *L. fortunei* en instalaciones humanas; sin embargo, su aplicación en el medio natural requieren estudios específicos en el campo; 4) En cuanto a la interacción entre *L. fortunei* y los bivalvos infaunales, pudo comprobarse que el mejillón dorado produce un estrés por fouling sobre *C. fluminea* dependiendo del grado de adhesión; y 5) el estudio bibliométrico demuestra una menor tendencia a trabajar con el control y el manejo de los bivalvos invasores que en otros aspectos relacionados a la biología y la ecología de estas especies. Se recomienda un mayor énfasis en la difusión de los problemas ocasionados por la invasión del mejillón dorado y el desarrollo de líneas de investigación tendientes a controlar / manejar a *L. fortunei*.

Abstract

The golden mussel, *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857) was accidentally introduced by transoceanic ship ballast water in South America in early 1990's. The golden mussel is a gonochoric freshwater mussel, with external fertilization and indirect development, the veliger larvae lives four weeks in the plankton until it settles onto a hard substrate and becomes a young mussel. Its life span is about three years. *L. fortunei* is considered as an invasive species in del Plata basin. The golden mussel has morpho-functional characteristics similar to other invasive species, the zebra mussel, *Dreissena polymorpha* (Pallas, 1771) in the northern hemisphere. Both species have impacted on natural ecosystems and facilities which use raw water. The present contribution proposes to determinate population characteristics of *L. fortunei* in an invaded man-made environment (Central hidroeléctrica Yacyretá); to evaluate different organic biocides to prevent / control *L. fortunei* and to estimate the impact caused by *L. fortunei* over the infaunal bivalves, in particular about *Corbicula fluminea* (Müller, 1774).

There were analyzed samples collected in two different sampling periods in the Central Hidroeléctrica Yacyretá (CHY) Density and total biomass of the settled populations were estimated. Data on total shell length were used to calculate monthly size frequency distributions. Each frequency distribution was adjusted to a normal curve by means of von Bertalanffy growth model The model was adjusted to three groups of samples. Growth constant (k) ranged between 1.39 and 1.60; maximum asymptotic length ranged between 29.47 and 33.68 mm.

Statistically significant differences were obtained for medium size in both sampling periods (first period, $H = 3434$; $p < 0,000$; second period, $H = 2541$; $p < 0,000$). Also, significant differences were obtained in total density ($H = 6,074$; $p < 0,0137$) and in young-of-the-year mussels ($H = 9,168$; $p < 0,0025$) in the first sampling period and in biomass in the second sampling period ($H = 3, 8628$; $p < 0,0494$). These differences can be explained through different water currents between sectors of the CHY.

There were made acute toxicity tests with four vegetal compounds. Three compounds (ECOTEC®-L, ECOTEC®-MC y ECOTEC®-UA) are commercial preparations of quebracho colorado (*Schinopsis balansae*) tannins' and the fourth is a customized solution based in Neem's tree oil. For ECOTEC® products, LC₅₀ of larvae ranged between 138 and 160 mg / L; LC₅₀ of 13 ± 1 mm adult mussels ranged between 160 and 983 mg / L; and LC₅₀ of 19 ± 1 mm adult mussels ranged between 442 and 1273 mg / L. For Neem's oil, LC₅₀ of larvae was 8 µl / L and LC₅₀ of adult mussels ranged between 122 and 249 µl / L. There was overlapping between LC₅₀ estimated for Neem's oil and non-target species and with LC₅₀ estimated for adult mussels with ECOTEC® products; and there wasn't overlapping between LC₅₀ estimated for larvae with ECOTEC® products and non-target species. We recommend ECOTEC® products as larvicidae and Neem's oil derivation only in closed systems.

Laboratory trials were performed to evaluate the effect of *Limnoperna's* adhesion to an infaunal bivalve, the introduced corbiculid *Corbicula fluminea*. Individuals of both species were acclimatized in 200 L aquaria in the laboratory. There were used *C. fluminea* individuals between 16 and 23 mm high. An equivalent of 20 ± 10 % (Assay 1) and 50 ± 10 % (Assay 2) wet weight of living *L. fortunei* was added to each *C. fluminea*. Two assays were made. (Assay 1 = 45 *C. fluminea* for each aquaria; Assay 2 = 60 *C. fluminea* for each aquaria) with *L. fortunei* added to *C. fluminea* were hold in aquaria (3 treatments and 1 control). Ten individuals were taken randomly out every 15 days to calculate their condition index (CI). This CI was used to estimate the stress of *C. fluminea* caused by the presence of *L. fortunei*. Regression analysis was used to compare treatment with control. There were significant differences between the treatment and control slope in both assays ($p < 0,05$). Assay 2's slope was significantly different from zero ($p = 0,0243$); The biggest difference between treatment and control (~ 20%) was observed in Assay 2. Possible effects of *Limnoperna* adhesion onto *Corbicula* and native infaunal bivalves are discussed.

Finally, a bibliometric study of scientific literature dealing with the three species of invasive bivalves (*C. fluminea*, *D. polymorpha* and *L. fortunei*) from 1989 to date, was undertaken. Publications were classified in topics. Results showed 938 publications on *D. polymorpha*, 90 on *L. fortunei* and 259 on *C. fluminea*. Topic categories with the largest number of publications were the Observational and the

Experimental respectively. Conservation and Management were the topics with fewer publications (zero for *C. fluminea* and *L. fortunei*, ten for *D. polymorpha*). The significance of these results for the study of *L. fortunei* is discussed.

This PhD thesis leaves us the following conclusions: 1) there is a variation in the colonization of *L. fortunei* in the CHY (extreme sector vs. central sector) related to environmental variables; 2) von Bertalanffy's growth constants were higher in the CHY than those estimated for a temperate region and lower than those estimated for a subtropical region; 3) organic biocides are shown to be useful as control agents in man-made facilities, but its use in a natural environment must be studied with more detail; 4) according to the interaction between *L. fortunei* and infaunal bivalves, we could establish that the golden mussel causes stress by fouling over *C. fluminea* according with the degree of fouling; 5) a bibliometric study related to invasive bivalves shows that there are more studies done on descriptive problems than on control measures. It is recommended to give more emphasis to disseminating the problems caused by the golden mussel and to the scientific agendas that consider control / management as objectives.

Capítulo I

Introducción

1.1 Biología de las invasiones

Las invasiones biológicas, entendidas como el arribo y la dispersión de especies fuera de su área de distribución natural, fueron inicialmente definidas por Elton (1958) y desde entonces su estudio ha ido incrementándose incesantemente (*e.g.* Bampfyld *et al.* 2010; Davis 2006, 2009; Puth & Post 2005; Richardson & Pyšek 2008). El interés que este fenómeno suscita radica en los problemas que estas especies pueden generar, tanto para la salud y la economía humanas (muchas de estas especies son vectores de enfermedades o plagas de cultivos), como para los ecosistemas invadidos. Así, existe un amplio consenso sobre el hecho de que las especies invasoras (EI) son una de las primeras causas de pérdida de biodiversidad a nivel mundial (se considera a la modificación del ambiente como la primera causa) (Clavero & García-Berthou 2005; Rahel 2000, 2002; Ricciardi 2004, 2007; Vitousek *et al.* 1997), y la primera causa en islas, lagos y áreas protegidas (Blackburn *et al.* 2004; Reaser *et al.* 2007; Sala *et al.* 2000; Towns *et al.* 2006). A modo de ejemplo, el Programa Mundial para las Especies Invasoras (GISP, Global Invasive Specialist Group) menciona que las EI afectan al 30% de las especies de aves, al 11% de las especies de anfibios y al 8% de las especies de mamíferos amenazadas de extinción (GISP 2006).

Las especies invasoras se encuentran en todos los grupos de organismos: *e.g.* vertebrados, invertebrados, algas, árboles, hongos y bacterias (Galil 2000; Novillo & Ojeda 2008; Richardson & Pyšek 2006; Seiden *et al.* 2010; Wolfe & Klironomos 2005), en ecosistemas (*e.g.* bosques, pastizales, estuarios, ríos, mares,) y en todas las regiones del mundo (Bax *et al.* 2003; Blackburn *et al.* 2004; Clarke *et al.* 2005; Grosholz 2002; Strayer *et al.* 1999; Zalba & Villamil 2002). Las EI no solo pueden desplazarse a regiones antes inaccesibles para ellas sino que las tasas a las que estos desplazamientos ocurren son muy superiores a las registradas en otras eras geológicas (Ricciardi 2007; Rodríguez 2001).

Sin embargo, y a pesar de que los casos reportados de EI son cada vez más numerosos, los mecanismos por los que estas afectan a la biodiversidad no están completamente comprendidos, dada la cantidad de variables involucradas y al hecho de que cada caso es contexto-dependiente, pudiendo variar entre especies y

ecosistemas. Se han postulado múltiples causas por las que las EI afectan al resto de las especies, entre ellas: competencia, transmisión de enfermedades, hibridación, depredación, cambios en la estructura trófica, en la dinámica hídrica y en el ciclo de nutrientes, etc. (e.g. Bøhn *et al.* 2008; Darrigran *et al.* 1998; Davis 2003; Ellstrand 2009; Mack *et al.* 2000; Schierenbeck & Ellstrand 2008; Simberloff 2001a, 2005, 2010, 2011a; Sousa *et al.* 2009; Tompkins *et al.* 2003). Conjuntamente, las hipótesis propuestas para explicar estos fenómenos también son numerosas, entre ellas: incremento de habilidades competitivas (*evolution of increased competitive ability*, EICA) (Blossey & Nötzold 1995), armas novedosas (*novel weapons*) (Bais *et al.* 2003; Callaway & Ridenour 2004; Colautti *et al.* 2004), nichos vacantes (Arndt 2006;), recursos fluctuantes (Davis *et al.* 2000), liberación del enemigo (*enemy release hypothesis*) (Keane & Crawley 2002; Mitchell & Power 2003), *invasional meltdown* (Simberloff & Von Holle 1999), entre otras (ver Catford *et al.* 2009 para una revisión de las mismas). Si bien muchas de estas hipótesis han sido postuladas para plantas, pueden ponerse a prueba en cualquier taxa.

Actualmente, existe una tendencia a hallar reglas generales en la biología de las invasiones (e.g. Blackburn *et al.* 2011; Simberloff 2010), en donde una de las más establecidas es la regla del 10, propuesta por Williamson y Fitter (1996), según la cual una de cada diez especies introducidas se vuelve naturalizada, y una de cada diez especie naturalizada se vuelve invasora. Como mencionan Richardson y Pyšek (2006), al hacer la cuenta hacia atrás por cada EI se deberían asumir 100 especies introducidas. Al observar las más de 150 especies establecidas en los grandes lagos en América del Norte (Ricciardi 2001; Ricciardi & Maclsaac 2000), o el número de especies vegetales establecidas en Europa y Nueva Zelanda (1.568 y 2.319, respectivamente) (Richardson & Pyšek 2006), se puede observar la magnitud del problema. Lo mismo ocurre en otras regiones del mundo. En las costas marinas de Argentina y Uruguay se contabilizaron 31 especies introducidas (Orensanz *et al.* 2002) y en las costas marinas de Chile, 32 especies introducidas de invertebrados y algas (Castilla *et al.* 2005). Este relativo bajo número de especies introducidas puede deberse a múltiples razones: pobre conocimiento de las comunidades, falta de estudios sistemáticos, ambientes poco disturbados, escaso comercio internacional, entre otras (Boltovskoy *et al.* 2011;

Castilla *et al.* 2005; Darrigran & Damborenea 2005; Levine & D'antonio 2003; Meyerson & Mooney 2007; Orensanz *et al.* 2002).

Sin embargo, la regla del 10 ha sido cuestionada, en particular el bajo porcentaje de especies introducidas que se vuelven invasoras. Según Jeschke y Strayer (2005) una proporción mucho mayor de las especies introducidas (aproximadamente un 50%) alcanzan distintas etapas (*i.e.* establecidas e invasoras) en el proceso de invasión. Según Jeschke (2008) el 63% de las aves introducidas y el 34% de los mamíferos, se vuelven invasores (Jeschke 2009; Rodriguez-Cabal *et al.* 2009). Estos ejemplos demuestran que no pueden establecerse reglas generales que se apliquen a todos los casos. No obstante, e independientemente de cuál sea la proporción de especies introducidas que se vuelven invasoras, se sabe que: (1) cada vez es mayor el número de especies movilizadas fuera de su área de distribución original (Darrigran, 2002; Hulme 2009; Karatayev *et al.* 2007a; Levine & D'antonio 2003), y (2) cuántas más especies se movilicen, más especies se volverán invasoras (Lockwood *et al.* 2009; Ricciardi & Kipp 2008).

1.2 Especies invasoras: definiciones

Falk-Petersen *et al.* (2006) realizaron un compendio de los términos utilizados en biología de las invasiones para referirse a las especies, entre ellos: especie indígena, especie nativa, endemismo, especie naturalizada, extranjera (*alien*), introducida, exótica, transferida, transplantada, inmigrante, establecida, invasiva, invasora, peste, plaga, maleza. Muchos de estos términos son sinónimos y hacen referencia a un momento particular en el proceso de invasión, y al comportamiento de cada especie. Una especie animal que afecte un cultivo podría ser considerada como peste o plaga, mientras que una especie vegetal que afecte a ese u otro cultivo sería considerada como maleza. En vista de los 145 términos listados por Falk-Petersen *et al.* (2006) y de los debates alrededor del tópico (Colautti & MacIsaac 2004; Colautti & Richardson 2009; Richardson & Pyšek 2006; Richardson *et al.* 2008; Valéry *et al.* 2008; Wilson *et al.* 2009) hallar una definición precisa de EI no es tarea sencilla, y su búsqueda excede los alcances de esta tesis. Sin embargo, establecer la problemática al respecto y definir

claramente que se entiende en este trabajo de tesis por EI es pertinente, dado que la definición que se adopte no solo debe explicar lo que se está estudiando, sino por qué se lo está estudiando. La definición que se adopte dará cuenta del marco teórico en el que se desarrolla este trabajo de tesis.

Según Valéry *et al.* (2008), los dos enfoque más difundidos para definir a las EI han sido el biogeográfico (Richardson *et al.* 2000; Wilson *et al.* 2009) y el de impacto ocasionado (Davis & Thompson 2000, 2002). Según el criterio biogeográfico, una especie debe superar una barrera geográfica (*e.g.* un océano o una montaña) o una distancia dada (más de 100 km, según Richardson *et al.* 2000) para ser considerada invasora. Como ocurre con la regla del 10, la distancia propuesta de 100 km es orientativa: aproximadamente unos 12 km separan a la Isla Grande de Tierra del Fuego del continente americano, pero han sido suficientes para evitar la dispersión del castor americano (*Castor canadensis*) en el mismo (*e.g.* Lizarralde *et al.* 2004).

Según el criterio de impacto, una especie debe provocar un impacto mayor en el ecosistema en el que se dispersa para ser considerada invasora (Davis & Thompson 2000, 2002).

Estos dos criterios no están exentos de inconvenientes. Por ejemplo, ¿qué es un impacto mayor?:

- ¿La extinción de las especies? (Simberloff 2005)
- ¿La introducción de un “ingeniero del ecosistema” que modifique el ambiente invadido? (Strayer *et al.* 1999; Sousa *et al.* 2009; Vitousek & Walker 1989)
- ¿La introducción de un depredador tope? (Witte *et al.* 1992).

En cuanto al criterio biogeográfico, este presenta al menos dos inconvenientes. Uno de ellos es el representado por las especies criptogénicas (Carlton 1996): especies cuyo origen es dudoso. Por ejemplo, *Perna perna* (Lineaus 1758), distribuida ampliamente en las costas brasileras y uruguayas, no está presente en los registros fósiles del cuaternario, ¿cuál es el rango de distribución original de esta especie? (Orensanz *et al.* 2002). Otro ejemplo: de las 61 especies encontradas en un estudio de zoobentos en la bahía de la Isla Grande (Brasil), 26 especies fueron consideradas nativas, 10 como introducidas y 25 como criptogénicas (Ignacio *et al.* 2010). La magnitud del problema de las EI en esta bahía cambia de acuerdo al estatus que se le

dé a las 25 especies criptogénicas (más de la mitad de las especies podrían ser introducidas).

El segundo de los inconvenientes del criterio biogeográfico, está dado por aquellas especies nativas que modifican su comportamiento siguiendo algún disturbio. Por ejemplo, *Dendroctonus ponderosae* (Hopkins, 1902), conocido como escarabajo descortezador, amplió su rango de distribución, favorecido por un aumento de las temperaturas (Hicke *et al.* 2006; Williams & Liebhold 2002), afectando más de 20 millones de hectáreas de bosques nativos en los Estados Unidos, con pérdidas del orden de 1,5 billones de dólares (Dale *et al.* 2001). Se reportaron ejemplos similares en otras especies: los pastos *Phalaris arundinacea*, en Norteamérica y *Elymus athericus*, en Europa (Kercher & Zedler 2004; Kercher *et al.* 2007; Valéry *et al.* 2004), y muchas coníferas en Sudáfrica (Richardson 2006). Si bien estos casos son menos numerosos, no se puede dejar de considerar su existencia (Simberloff 2010).

En vista de estos inconvenientes, el enfoque propuesto por Valéry *et al.* (2008), considera el proceso de invasión *per se*. Según este punto de vista, no importa el origen de la EI o la dimensión del impacto provocado por ésta, criterios siempre abiertos a subjetividades (Simberloff 2005; Valéry *et al.* 2008), sino que interesa la forma en que el proceso de invasión ocurre. La definición del proceso de invasión sugerida por Valéry *et al.* (2008) es la siguiente: *una invasión biológica consiste en una especie que adquiere una ventaja competitiva, siguiendo la desaparición de obstáculos naturales a su proliferación, lo que le permite dispersarse rápidamente y conquistar nuevas áreas dentro del ecosistema receptor, en el que se vuelve dominante.* Considerar la invasión como un proceso tiene la ventaja de proporcionar una definición más inclusiva que los dos criterios anteriormente citados, ya que permite incluir como EI a especies nativas, o a aquellas cuyo impacto aún esté por determinarse. Otra ventaja de ver la invasión como un proceso es que permite evaluar el fenómeno a nivel poblacional y no a nivel de especie, ya que distintas poblaciones de una misma especie muestran comportamientos diferentes a lo largo de su área de distribución (Colautti & MacIsaac 2004; Ehrenfeld 2010). Por ejemplo, la dinámica poblacional del mejillón “quagga”, *Dreissena rostriformis bugensis* (Andrusov, 1897), es muy diferentes en las cuencas de los ríos Danubio, Dniéper, Don y Volga, en Europa (Zhulidov *et al.* 2009). No obstante, ésta definición tampoco está exenta de

inconvenientes. Primero, determinar la dominancia de una especie en la comunidad no siempre es sencillo; segundo, sí una especie está ampliamente distribuida en el ambiente y a la vez no es dominante (Colautti & MacIsaac 2004), este criterio fallaría en considerarla una EI.

Cada una de las definiciones consideradas (biogeográfica, de impacto y de dominancia) presenta carencias. El criterio biogeográfico es el más práctico, y el que permite en principio, un mejor manejo de las especies en tránsito desde su lugar de origen (Hulme 2006). El criterio de impacto permite definir prioridades de manejo, concentrando los recursos en las especies más problemáticas. El criterio propuesto por Valéry *et al.* (2008) permite estudiar o controlar una especie que por su comportamiento dominante afecte la estabilidad de una comunidad (Larson 2008). Siguiendo lo que Davis (2006) definió como la “vía eltoniana” de la biología de la invasiones, se parte del hecho de que las EI son un problema para la biodiversidad y, al menos algunas de ellas, son un importante problema socioeconómico (Darrigran 2006; GISP 2006; Pimentel *et al.* 2005). Siguiendo a Larson (2008), lo importante desde el punto de vista de la conservación radica en cuándo una especie se vuelve dominante en un ecosistema, y cuál es su efecto en dicho ecosistema. No hay que olvidar que el objetivo implícito del control o la erradicación de las EI es la prosperidad de la(s) especie(s) amenazada(s) por ellas (Mack & Lonsdale 2002).

Es preciso enfatizar que en este trabajo de tesis se hará referencia a especie invasora (EI) por sobre otras opciones posibles, como por ejemplo especie exótica invasora (EEI) o especie introducida invasora (EII), porque las EI son un problema medioambiental, independientemente de su origen, de cómo arribaron y de la magnitud del problema, y es por esto que se las estudia y se intenta su control. Así, siguiendo un criterio de dominancia (Larson 2008), se entiende como EI a *cualquier especie que manifieste, en una fracción o la totalidad de su rango de distribución, un comportamiento invasor (i.e. una dominancia que amenace la supervivencia de una o más especies en la comunidad receptora)*. Para finalizar, como mencionan Pyšek y Richardson (2006) y Valéry *et al.* (2009), la clasificación como EI debería estar dada por medidas objetivas de crecimiento poblacional y dispersión, las cuales pueden ser comparadas y cuantificadas, y no por la dicotomía nativa vs. exótica (Chew & Hamilton 2011).

1.3 Caso de estudio: el mejillón dorado, *Limnoperna fortunei*

El mejillón dorado, *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857) (Figura 1.1a) es un bivalvo dulciacuícola originario del sudeste asiático (Morton 1973, 1977; Ricciardi 1998; Wang *et al.* 2007) que fue introducido al estuario del Río de la Plata a principios de la década de 1990 vía agua de lastre de las embarcaciones transoceánicas (Darrigran & Pastorino 1995; Pastorino *et al.* 1993). *L. fortunei* presenta la morfología valvar típica de la familia Mytilidae (para una descripción detallada ver Morton 1973; Darrigran & Damborenea 2006b) y una coloración distintiva, que le confiere su nombre vulgar. No obstante, esta coloración (amarilla dorada) puede variar entre las poblaciones (Darrigran & Damborenea 2006b).

1.3.1 Modo y ciclo de vida

Limnoperna fortunei es una especie de 3 a 4 cm de longitud (Darrigran 2002), siendo la máxima registrada de 6 cm (Iwasaki & Uryu 1998); gonocórica y con fecundación externa. Las gametas femeninas y masculinas son liberadas en el agua cuando esta alcanza una temperatura de aproximadamente 16 °C (Darrigran *et al.* 1999, 2003). Las larvas permanecen en el plancton entre dos y tres semanas, antes de metamorfosearse en un juvenil y adherirse a cualquier sustrato duro (Darrigran 2002); para una descripción del ciclo larval ver Cataldo *et al.* (2005), dos Santos *et al.* (2005), Ezcurra de Drago *et al.* (2006).

El mejillón dorado presenta un estilo de vida bentónico, agregado epifaunal, adherido mediante mediante fibras proteicas (biso) (Figura 1.1 b-d; Figura 1.2), lo que le permite adherirse a prácticamente cualquier sustrato duro sumergido. *L. fortunei* forma densas agregaciones de individuos en el ambiente natural, de hasta 150.000 ind / m² (Darrigran 2002) y más de 200.000 ind / m² en épocas reproductivas (Sardiña *et al.* 2009), lo que lo convierte en el molusco dominante en los cuerpos de agua en los que habita (Boltovskoy *et al.* 2006; Darrigran 2002), pudiendo alcanzar poblaciones de hasta 45 billones de individuos en Embalse Río Tercero, Córdoba (Boltovskoy *et al.* 2009a). En ambientes humanos invadidos (tomas de agua para refrigeración de

industrias, plantas generadoras de energía, canales de riego, etc.) alcanza densidades de hasta 248.200 ind. / m² (Darrigran *et al.* 2007a).

Limnoperna fortunei posee, en la región neotropical, un ciclo de vida de entre dos a tres años (Belz *et al.* 2010; Boltovskoy & Cataldo 1999; Maroñas *et al.* 2003); por su parte, se mencionan ciclos de vida de dos años en Japón, entre cuatro a cinco años en Corea y de más de diez años en China (Iwasaki & Uryu 1998). El período reproductivo se extiende, según la región, durante tres meses (Iwasaki & Uryu 1998), cinco meses (Magara *et al.* 2001), nueve meses (Boltovskoy & Cataldo 1999) o durante todo el año (Darrigran *et al.* 1999; Maroñas *et al.* 2003). Como señalan Darrigran y Damborenea (2006b) estas diferencias en el ciclo reproductivo pueden deberse a factores ambientales (principalmente, la temperatura del agua) o una percepción sesgada debido a la metodología utilizada para determinar la duración del ciclo en cada estudio (presencia de larvas en el agua vs. estudio gonadal). Otros factores que pueden influir en el ciclo reproductivo es la disponibilidad de alimento y eventos de floración de algas tóxicas (Boltovskoy *et al.* 2009a). Detalles de *L. fortunei* se sintetizan en la Tabla 1.1.

Tabla 1.1 Características de *Limnoperna fortunei*.

<i>Limnoperna fortunei</i>		
Huevos / Larvas		Fuente
Hábitat	Plantónica	1
Tamaño del huevo (µm)	85-100	2
Tamaño de las larvas (µm)	85-400	3
Supervivencia	< 20 %	4
Adultos		
Hábitat	Bentónico	1
Estilo de vida	Sésil, agregado, bisado	1
Largo máximo (mm)	60	4
Tipo de alimentación	Filtrador	1
Ciclo de vida (años)	1 a 4	6, 7, 8
Maduración sexual (meses)	3 a 4	9
Sexos	Separados, eventual hermafroditismo	9
Eventos reproductivos	Múltiples	10
Fertilización	Externa	10
Fecundidad	Sin datos	

Referencias: 1: Morton 1977; 2: Cataldo *et al.* 2005; 3: dos Santos *et al.* 2005; 4: Sylvester *et al.* 2007a; 5 : Iwasaki & Uryu 1998; 6: Boltovskoy & Cataldo 1999; 7: Iwasaki & Uryu 1998; 8: Maroñas *et al.* 2003; 9: Darrigran *et al.* 1999; 10: Darrigran *et al.* 1998.

1.3.2 Características como EI

Limnoperna fortunei posee muchas de las características que hacen a un invasor exitoso (Morton 1996): es una especie de pequeño tamaño, gonocórica, de fecundación externa, con un ciclo de vida corto, eurioca y euritópica (Darrigran 2002; Karatayev *et al.* 2007b; Ricciardi 1998). Según Karatayev *et al.* (2009) muchos macroinvertebrados dulciacuícolas invasores son filtradores y tolerantes a la contaminación ambiental, características que *L. fortunei* posee (Morton 1996). Por su parte, Keller *et al.* (2007a), estudiando aspectos de la historia natural y la distribución geográfica de EI dulciacuícolas, encontraron que aquellos moluscos con una fecundidad elevada deberían ser considerados invasores exitosos y hacen referencia a *L. fortunei*. Si bien no existen estudios específicos sobre la fecundidad de *L. fortunei*, las altas densidades larvales registradas para la especie (Cataldo & Boltovskoy 2000; Darrigran *et al.* 2009) permiten inferir que el criterio es válido para esta especie. *L. fortunei* también puede ser considerada como un invasor de gran impacto (*high-impact invader*) según cuatro de los seis criterios listados por Ricciardi y Maclsaac (2011) para especies dulciacuícolas: gran densidad y alta fecundidad, especies depredadoras u omnívoras (el mejillón dorado es placntófaga de amplio espectro), especies que realizan una función novedosa en el ecosistema (el mejillón dorado ocupa un nicho vacante) y el hecho de producir impactos mayores en otras áreas invadidas. Para los otros dos criterios (novedosa utilización y alteración de recursos críticos y similitud de requerimientos fisiológicos entre la región de origen y la región invadida) no existen estudios detallados. Sin embargo, el estudio realizado en el Embalse Río Tercero (Córdoba, Argentina) (Boltovskoy *et al.* 2009a) muestra el cambio que el mejillón dorado ocasiona en parámetros como la transparencia del agua, el sestón y la productividad primaria bruta, por lo que el criterio de la novedosa utilización del recurso se cumpliría en este caso. Por otro lado, las características fisicoquímicas del lago Poyang (China) permiten suponer que existe una correspondencia entre la región nativa y la invadida (Wang *et al.* 2007).

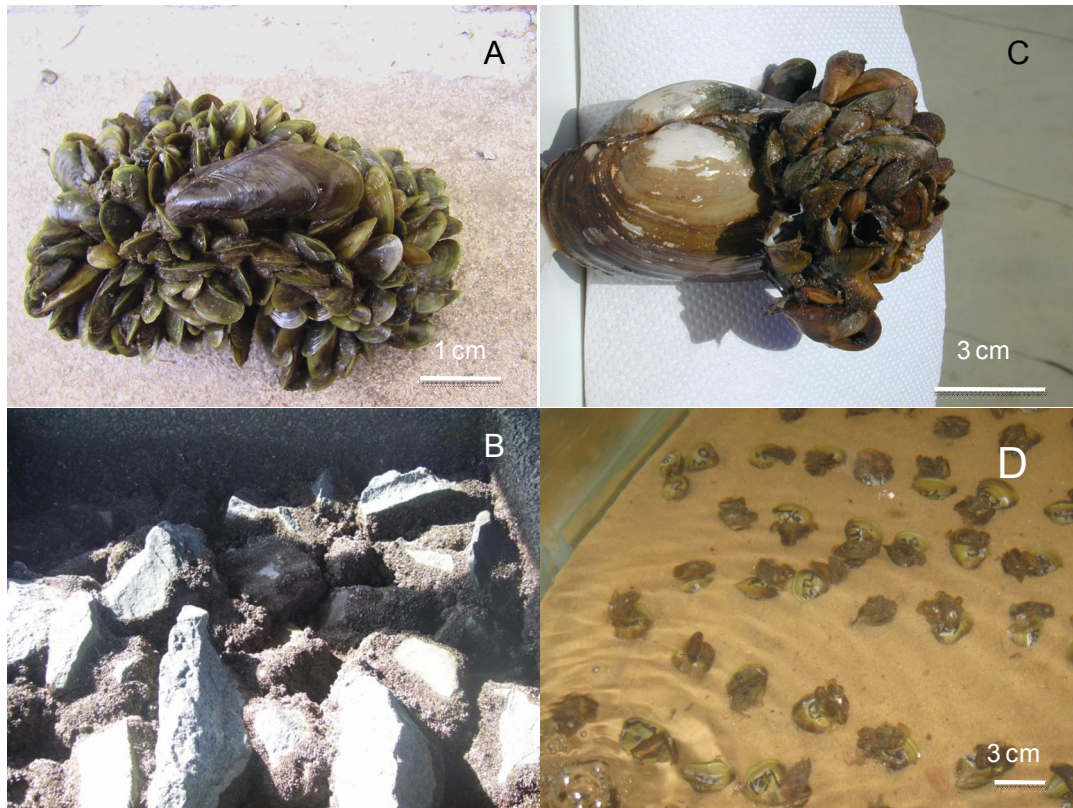


Figura 1.1 A) vista de un grupo del mejillón dorado; B) vista de los grupos del mejillón dorado en el espigón de pesca de Punta Lara (34°49'S – 57°56'O), Argentina; C) biofouling del mejillón dorado sobre *Anodontites* sp; D) fouling del mejillón dorado sobre *Corbicula fluminea*.

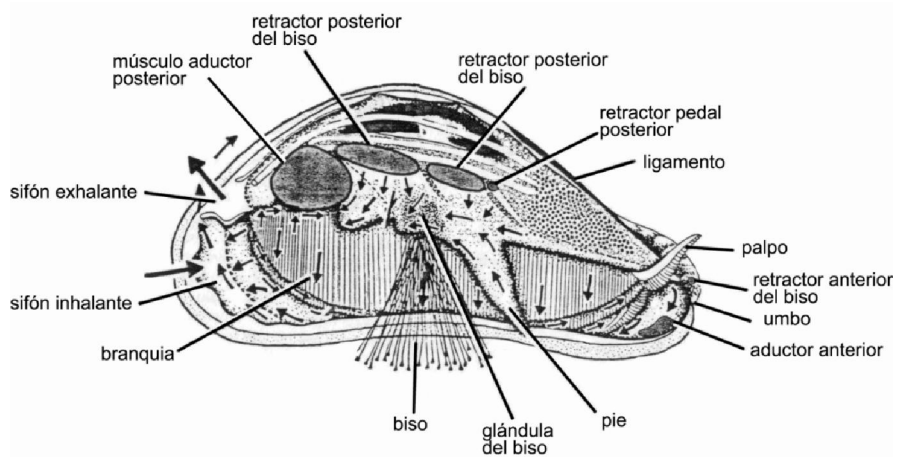


Figura 1.2. Esquema de la anatomía interna de *Limnoperna fortunei*. (Tomado de Darrigran y Damborenea (2006b). Las flechas indican la circulación del agua dentro del manto.

1.3.3 Áreas invadidas

El mejillón dorado ha sido accidentalmente introducido y actualmente invade en Hong Kong, (Morton 1977), Taiwán (Ricciardi 1998) y Japón (Kimura 1994), y en países sudamericanos, Argentina, Uruguay, Paraguay, Brasil (Darrigran & Ezcurra de Drago 2000; Mansur *et al.* 1999; Pastorino *et al.* 1993) y presumiblemente en Bolivia (Darrigran & Mansur 2006). El vector probable en las introducciones del mejillón dorado es el agua de lastre, salvo en Japón donde se presume que llegó junto con la introducción comercial de la almeja asiática, *Corbicula fluminea* (Müller 1774) (Magara *et al.* 2001). Una vez introducido, el mejillón dorado alcanzó los límites de su distribución por medio de dispersión difusa o a saltos (Boltovskoy *et al.* 2006).

Desde su introducción en el Río de la Plata en la década de 1990 ha invadido la cuenca del Plata; la ruta de la invasión en América del Sur se detalla en la tabla 1.2.

Tabla 1.2 Línea temporal y localidades en dónde se detectó a *Limnoperna fortunei* en América del sur. Modificado de www.malacología.com.ar

Año	Localidad	Referencias
1991	Berisso (Argentina)	Pastorino <i>et al.</i> 1995
1993	Punta Piedras (Argentina)	Darrigran 2002
1994	La Plata (Argentina)	Darrigran 2002
1994/95	Bernal / Retiro (Argentina) y Colonia (Uruguay)	Scarabino & Verde 1994
1995/96	Colectas en el río Parana (Argentina)	Darrigran & Ezcurra del Drago 2000
1998	Posadas (Argentina)	Darrigran & Ezcurra del Drago 2000
1999	Puerto Alegre (Brasil)	Mansur <i>et al.</i> 1999
2000 /01	Córdoba (Argentina) e Itaipú (Brasil)	Darrigran 2002
2004	San Pablo (Brasil)	Oliveira <i>et al.</i> 2006
2006	El Pantanal (Brasil)	Oliveira <i>et al.</i> 2006

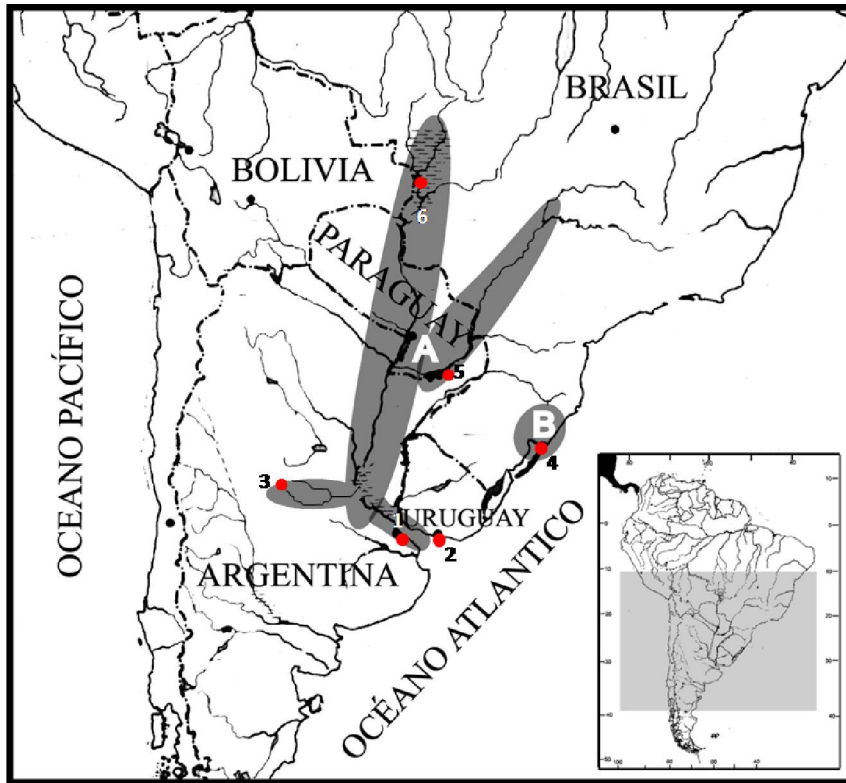


Figura 1.3 Mapa de la distribución de *Limnoperna fortunei* en Sudamérica. Los puntos representan localidades de presencia del mejillón dorado, extraídos de la literatura. Se han destacado los puntos más significativos. 1: Playa Blagiardi (primera cita del mejillón dorado) (Pastorino *et al.* 1993); 2: Colonia (Scarabino & Verde 1994); 3: Embalse Río Tercero, Córdoba (Boltovskoy *et al.* 2009a); 4: Cuenca del Guaíba (Mansur *et al.* 1999); 5: Central Hidroeléctrica Yacyretá (Darrigran 2002); 6: El Pantanal (de Oliveira *et al.* 2006). Las áreas remarcadas representan las dos vías de introducción en Sudamérica del mejillón dorado. A: ingresando por el Río de la Plata; B: ingresando por la Cuenca del Guaíba, Brasil. Modificado de Darrigran y Mansur (2006).

En Brasil colonizó el reservorio de Itaipú, una de las centrales hidroeléctricas más grandes del mundo, en el año 2000 (Darrigran, 2002) (Figura 1.3). En Uruguay se lo describió en los Ríos de la Plata, Negro, Santa Lucía y Uruguay (Brugnoli *et al.* 2005, Darrigran 2010). Se han reportado invasiones en: plantas potabilizadoras de agua en Bernal, Buenos Aires, Córdoba y La Plata (Darrigran 2010; Darrigran & Ezcurra del Drago, 2000), represas hidroeléctricas (Yacyretá, este estudio), plantas nucleares (Darrigran 2010) y embalses (Boltovskoy *et al.* 2009a), en Argentina; plantas hidroeléctricas en Brasil (Rolla & Mota 2010); industria pesquera en la República

Oriental del Uruguay (Darrigran 2010). Problemas similares ocurrieron en Hong Kong (Morton 1977) y Japón (Magara *et al.* 2001).

Como mencionan Boltovskoy *et al.* (2006), en la región neotropical se ha dado mayor importancia al impacto causado en instalaciones humanas que al daño ecosistémico. El principal problema en instalaciones humanas es la capacidad del mejillón dorado de producir *macrofouling* (*i.e.* incrustación en sustrato duro de organismos de más de un mm de longitud). El pequeño tamaño de las fases larvales y el gran número de éstas producidas en cada periodo reproductivo facilitan al mejillón dorado invadir todo tipo de instalaciones (Darrigran 2002; Darrigran & Pereyra en prensa) hasta obligar a detener, por ejemplo, a la planta de energía San Roque (Córdoba, Argentina) desabasteciendo de agua a una de las capitales más importante de la Argentina por 24 h (Darrigran 2010). Problemas similares han sido remarcados para Brasil (Rolla 2010), Hong Kong (Morton 1977) y Japón (Magara 2001).

Se considera al mejillón dorado como una especie “ingeniera de ecosistemas” (Darrigran & Damborenea 2011) es decir una especie que “directa o indirectamente regula la disponibilidad de recursos para otras especies-(Jones *et al.* 1994; para una revisión del concepto, ver Wright & Jones 2006). Los estudios realizados hasta la fecha permiten suponer que el mejillón dorado produce: cambios en la estructura y composición de la comunidad bentónica (Darrigran *et al.* 1998, Sardiña *et al.* 2008; Sylvester *et al.* 2007a), modificación de los hábitos alimenticios de la fauna del Río de la Plata (García & Protogino 2005; Paolucci *et al.* 2010a, b; Penchazsadeh *et al.* 2000) y el río Paraná (Paolucci *et al.* 2007; Sylvester *et al.* 2007b), biofouling sobre especies bentónicas (Darrigran 2002; Lopes *et al.* 2009; Mansur *et al.* 2003), aumento del recurso alimentario disponible y el concomitante aumento en la densidad y biomasa de las poblaciones que utilizan este recurso (Boltovskoy *et al.* 2006), aumento de la transparencia del agua, conjuntamente con descensos de la materia orgánica suspendida, de la productividad primaria y de la clorofila a (Boltovskoy *et al.* 2009a; Darrigran & Damborenea 2011; Sousa *et al.* 2009).

Como se ve, se puede clasificar a *L. fortunei* como una EI tanto por el criterio biogeográfico como por el criterio de impacto (Richardson 2000; Davis & Thompson 2002). Asimismo, se la puede clasificar como una EI según el criterio de dominancia (Larson 2008; Valéry *et al.* 2009).

1.4 Hipótesis de trabajo y objetivos de estudio

La finalidad de este trabajo de Tesis es explorar el impacto de *L. fortunei* en las estructuras artificiales y su impacto en el ambiente natural. Así, se estudiaron aspectos poblacionales en un ambiente humano invadido de clima subtropical (Central Hidroeléctrica Yacyretá – CHY), se exploraron potenciales herramientas de control y prevención de bajo impacto ambiental, se estudiaron el efecto de la adhesión del mejillón dorado sobre especies de bivalvos infaunales y se analizó el perfil de la literatura dedicada a *L. fortunei* y a otros bivalvos invasores en las últimas décadas a nivel global.

1.4.1 Hipótesis de trabajo

Se plantearon las siguientes hipótesis de trabajo:

- El patrón de invasión del mejillón dorado varía entre las distintas secciones de un ambiente humano invadido (*e.g.* una central generadora de energía).
- *L. fortunei* es susceptible a distintos tóxicos derivados de sustancias orgánicas de origen vegetal, los cuáles le provocan la muerte.
- La adhesión de *L. fortunei* afecta negativamente a los bivalvos infaunales usados como sustrato (*e.g. Corbicula fluminea*).
- *L. fortunei* es una El más agresiva que su equivalente en el hemisferio norte, *D. polymorpha*.

Sobre la base de estas hipótesis, se plantearon los siguientes objetivos generales y particulares:

1.4.2 Objetivos de estudio

1.4.2.1 *Objetivo general*

- Generar conocimiento sobre la estrategia de invasión de *Limnoperna fortunei* para su control.

1.4.2.2 *Objetivos particulares*

- Describir el crecimiento individual, densidad, talla media y biomasa de *L. fortunei* en la Central Hidroeléctrica Yacyretá.
- Determinar la CL₅₀ y CL₁₀₀ para tres taninos del quebracho colorado (*Schinopsis balansae*) con estadios adultos y larvales de *L. fortunei*.
- Determinar la CL₅₀ y CL₁₀₀ para una solución de aceite de Nim con estadios adultos y larvales de *L. fortunei*.
- Determinar el grado de estrés fisiológico producido por *L. fortunei* al adherirse a *C. fluminea*.
- Comparar el estudio de la invasión de *Limnoperna fortunei* con la de *Dreissena polymorpha* y la de *C. fluminea* a través de datos bibliográficos.

Capítulo II

Aspectos poblacionales de *Limnoperna fortunei* en un ambiente humano invadido:
caso Central Hidroeléctrica Yacyretá

Aspectos poblacionales de *Limnoperna fortunei* en un ambiente humano invadido: caso Central Hidroeléctrica Yacyretá

2.1 Introducción

El mejillón dorado actualmente invade instalaciones humanas en todos los sitios en donde fue introducido (Darrigran 2002, 2010; Morton 1977; Nagaya *et al.* 2001; Ricciardi 1998) ocasionando distintos problemas (Tabla 2.1).

Tabla 2.1 Problemas ocasionados por *Limnoperna fortunei* en instalaciones humanas invadidas (tomado de Darrigran & Damborenea 2006c).

Problemas generados en instalaciones del MERCOSUR
Reducción del diámetro y/o oclusión de tuberías por ejemplares adheridos a sus paredes.
Reducción de la velocidad del agua, debido al incremento de la fricción (flujo turbulento).
Acumulación de valvas vacías por inadecuados técnicas de control.
Contaminación del agua del sistema de tuberías por mortalidad masiva.
Oclusión de filtros.

Estudios sobre la dinámica poblacional del mejillón dorado en ambientes humanos invadidos han sido realizados en Hong Kong (Morton 1977), en Argentina, (Boltovskoy & Cataldo 1999; Boltovskoy *et al.* 2009a; Darrigran 2002, 2010; Darrigran *et al.* 2007a), en Brasil, en el embalse de la Represa Hidroeléctrica Itaipú (Belz *et al.* 2010) y en Japón (Magara *et al.* 2001; Nakano *et al.* 2011). Entender la dinámica de la población en un ambiente humano invadido es un primer paso necesario para establecer mejores estrategias de prevención y control (Darrigran *et al.* 2007a).

Los invertebrados bentónicos muestran diferencias en sus ciclos de vida, tanto en ambientes marinos (Ettert 1989) como en ambientes dulciacuícolas (Chase & Bailey 1999). Estudiar las variaciones en la reproducción y en el crecimiento permitiría un mejor manejo de los recursos y de las estrategias de control (Boltovskoy *et al.* 2009b; Costa *et al.* 2008; Darrigran & Pereyra en prensa). En este contexto, se planteó estudiar la población del mejillón dorado presente en la Central Hidroeléctrica

Yacyretá. El mejillón dorado fue detectado por primera vez en el área de la Central Hidroeléctrica Yacyretá (CHY) en 1997 (Darrigran 2002) y los estudios comenzaron en diciembre de 1998 con el uso de muestreadores artificiales, tanto para evaluar el crecimiento individual de *L. fortunei* como su densidad, biomasa y talla media.

2.2 Material y métodos

2.2.1 Área de estudio

La Central Hidroeléctrica Yacyretá pertenece a una entidad binacional (EBY: Entidad Binacional Yacyretá Argentina Paraguay) y se encuentra ubicada en el curso superior o alto Río Paraná, en la provincia de Corrientes (27°29'S - 56°44'O) (Figura 2.1A). Esta central posee 20 turbinas, con capacidad para generar 20.000 Gwh (Gigawatts hora) (Figura 2.1B). El embalse posee un área de 1.600 km² y un largo total de 342 km. El caudal medio es de 12.000 metros cúbicos por segundo (Darrigran *et al.* 2007a).

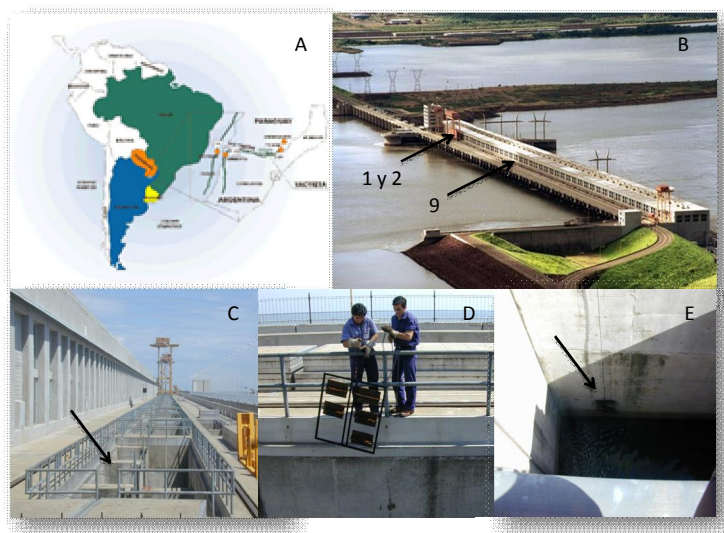


Figura 2.1 A. Detalle de la ubicación geográfica de la CHY; B. Imagen aérea de la CHY. Las flechas indican la ubicación de los vanos en los que se colocaron los monitores; C. Aproximación de los vanos de la CHY. La flecha indica un vano; D operarios colocando un monitor; E. Ubicación de los monitores en el vano. La flecha señala el monitor.

2.2.2 Toma de muestras

Los estudios comenzaron en diciembre de 1998 y se extendieron por dos períodos, el primero desde el 14-12-1998 al 26-11-1999 y el segundo desde el 01-07-2000 hasta el 30-06-2001. Las muestras fueron tomadas en el marco del convenio específico EBY-FCNyM: Monitoreo y evaluación para el control de *Limnoperna fortunei* en la C.H.Y., a cargo del Dr. Gustavo Darrigran.

Se utilizaron ocho monitores cada año, cuatro de ellos en el centro de la central (vano 9) y los otros cuatro en la margen izquierda (vanos 1 y 2). Los monitores fueron colocados a una profundidad aproximada de 8 m. Cada monitor constaba de un armazón de metal, del que se sujetaban seis muestreadores de fibrocemento (Figura 2.2). El diseño de estos monitores estuvo basado en Morton (1977) y resultaron ser los más efectivos para el estudio del mejillón dorado en esta Central (Darrigran *et al.* 2007), considerando que los mismos presentan las limitaciones propias de todo monitor que simula el ambiente en un estudio poblacional (en este caso un sustrato de asentamiento). El monitor colgaba sujeto con una cadena; los muestreadores estaban sujetos al monitor por ambos extremos por lo que no giraban.

La velocidad media del agua (profundidad = 7 m) fue de 0,09 m / seg (rango = 0,0 – 0,18 m / seg). Para la medición se utilizó un micromolinetete (Swoffer Instruments, modelo 2100). La temperatura en el primer período de muestreo fue de $21,16 \pm 3,79$ °C, la conductividad fue de $49,31 \pm 3,65$ $\mu\text{S} / \text{cm}$ y el ph fue de $6,88 \pm 0,56$ (promedio \pm desvío estándar); para el segundo período de muestreo, la temperatura fue de $24,38 \pm 3,76$ °C, la conductividad fue $48,16 \pm 1,94$ $\mu\text{S} / \text{cm}$ y el ph fue de $7,02 \pm 0,35$ (promedio \pm desvío estándar).

De cada monitor, se retiraba mensualmente un muestreador. En cada muestreo se colectaban (sin reposición) todos los individuos de *L. fortunei* adheridos al muestreador. Los individuos de *L. fortunei* estaban firmemente adheridos al muestreador por lo que no se desprendrían al momento de la colecta. Todos los individuos fueron conservados en formol al 10% para su posterior análisis. En el primer período de muestreo, un monitor colocado en el vano 2 se perdió. La lista de muestreadores utilizados en este estudio se detalla en la tabla 2.2.

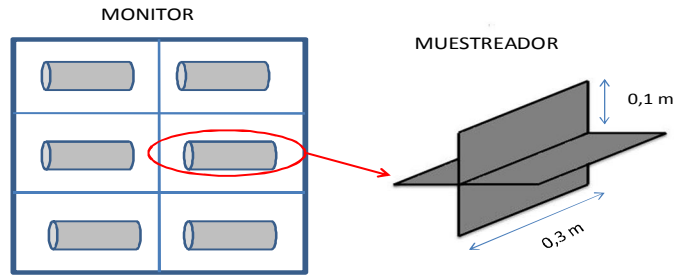


Figura 2.2 Detalle de los sustratos artificiales (monitores y muestreadores) utilizados en este estudio.

Tabla 2.2 Fechas en las que se retiraron los muestreadores. SI = indica las muestras que fueron procesadas; NO = indica las muestras que se perdieron. E = Muestreadores retirados en el extremo de la margen izquierda (vanos 1 y 2); C = Muestreadores retirados en el centro (vano 9).

Fecha	Período 1999				Período 2000-01				
	Vano 9		Vanos 1 y 2		Vano 1		Vano 9		
	C1	C2	E1	E2	E3	E4	C3	C4	
11/02/1999	NO	NO	SI	SI					
23/02/1999	SI	NO	NO	NO	10/07/2000	SI	SI	SI	SI
10/03/1999	SI	NO	SI	SI	13/09/2000	SI	SI	SI	SI
11/04/1999	SI	SI	SI	SI	18/10/2000	SI	SI	SI	SI
08/05/1999	SI	SI	SI	SI	28/11/2000	SI	SI	SI	SI
12/06/1999	SI	SI	SI	NO	28/12/2000	SI	SI	SI	SI
17/07/1999	NO	SI	SI	NO	29/01/2001	SI	SI	SI	SI
14/08/1999	SI	SI	SI	NO	26/02/2001	SI	SI	SI	SI
16/09/1999	SI	SI	SI	NO	27/03/2001	SI	NO	SI	SI
22/10/1999	SI	SI	SI	NO	25/04/2001	SI	SI	SI	NO
26/11/1999	SI	SI	SI	NO	29/05/2001	SI	SI	NO	SI
28/12/1999	SI	NO	NO	NO					

2.2.3 Densidad, biomasa y talla media

Los muestreadores artificiales, para seguir el crecimiento de poblaciones con períodos plurianuales de reproducción, son en general muy utilizados, ya que así se puede estimar el momento de asentamiento (Karatayev *et al.* 2006; Darrigran *et al.* en prensa). Para el estudio de la densidad, la biomasa y la talla media se consideraron a cada muestreador como una única muestra, sin discriminar entre las distintas caras. La superficie del muestreador es de 0,24 m²

Los individuos fueron medidos en su largo total (LT), desde el umbo hasta el extremo posterior. Los individuos mayores a 5 mm se midieron con un calibre digital (precisión = 0,01 mm) y con microscopio estereoscópico con ocular micrométrico los individuos juveniles (aquellos que medían entre 2 y 5 mm). Se midió la totalidad de los individuos presentes en los muestreadores o una fracción de estos (un cuarto de la muestra total seleccionado al azar) siempre que las muestras fueran ≥ 500 individuos (Nalepa *et al.* 1995). En las muestras que fueron fraccionadas, los datos fueron extrapolados a la muestra total (Nalepa *et al.* 1995). Para evaluar las diferencias en la densidad (media total, de juveniles y de individuos ≥ 15 mm) y la talla media entre sectores de la CHY se utilizó el test no paramétrico de Kruskal-Wallis (Zar 1999).

Se estudió el crecimiento en biomasa de la población considerada. Para ello, se separaron los individuos de $LT \geq 5$ mm, por rangos de talla (cada 1 mm) y se pesaron cinco individuos al azar. Se eligió este procedimiento luego de verificar que no existían diferencias significativas (test t; $p < 0,000$) entre las pendientes de las curvas construidas con 5, 10 y 20 individuos. Los individuos seleccionados fueron secados en estufa (48 h a 60°C) para obtener el Peso Seco (PS) y luego se utilizó una mufla para obtener el Peso Seco Libre de Cenizas (PSLC) (1 h a 550°C). Restándole el PSLC al PS se obtuvo la biomasa promedio para cada rango de tallas (Nalepa *et al.* 1995). Los individuos secos fueron pesados individualmente, mientras que los individuos muflados se pesaron por rangos de talla. La biomasa media en cada fecha de muestreo fue estimada multiplicando el número de individuos en cada rango de talla por la biomasa promedio de ese rango de tallas (Nalepa *et al.* 1995). Se evaluó la diferencia de biomasa entre sectores mediante el test no paramétrico de Kruskal-Wallis (Zar 1999).

Para cada fecha de muestreo y cada muestreador, la relación entre la biomasa y el largo total fue estimada con la ecuación alométrica:

$$P = a * L^b$$

P es la biomasa del tejido blando en mg y L el largo total en mm; a y b son las constantes de la ecuación. Para ilustrar la variación temporal en la relación biomasa / L, se ajustó a cada ecuación un mejillón adulto de 15 mm (Nalepa *et al.* 1995).

2.2.4 Crecimiento individual

Con los datos de LT de los individuos medidos de cada muestreador se generaron distribuciones de frecuencia de tallas (DFT) con intervalos de clase de 1 mm. Estas DFTs fueron descompuestas en sus componentes unimodales siguiendo Maroñas *et al.* 2003, asumiendo que cada moda representa una cohorte. Se ajustó el modelo de von Bertalanffy a tres conjuntos de muestras para el segundo período de muestreo (E3, C3 y C4, Tablas 2.3 y 2.4). Se ajustó el modelo solo a aquellas cohortes que pudieron ser seguidas al menos durante siete fechas de muestreo (Tabla 2.5). Para el ajuste de las cohortes se siguió a Darrigran *et al.* (en prensa) y a Nakano *et al.* (2011).

El modelo ajustado tiene la expresión:

$$L_{\infty} = L_t [1 - e^{-k(t-t_0)}]$$

L_t es el largo total al tiempo t, L_{∞} el largo máximo asintótico, k es la constante de crecimiento y $(t - t_0)$ es la edad relativa expresada en años. El valor de L_{∞} se estimó para cada conjunto de muestras como $L_{\max}/0.95$, donde L_{\max} es la talla del organismo mayor encontrado para esas cohortes (Pauly 1984). Cada fecha de muestreo fue transformada en partes del año y para ello se utilizó la ecuación:

$$(t_i - t_a)/365$$

Donde t_i es la fecha en la que se realizó el muestreo y t_a el primer día de ese año.

La metodología descrita se aplicó también a los datos de crecimiento individual de *L. fortunei* de una población de ambiente natural, publicados por Maroñas *et al.* (2003), para evaluar si existen diferencias en los resultados de acuerdo a la metodología empleada.

2.3 Resultados

2.3.1 Densidad, biomasa y talla media

La densidad media, densidad de juveniles y la biomasa media estimadas para cada fecha de muestreo se muestran en la tabla 2.3.

La densidad en los distintos muestreadores varió entre 1.529 y 66.933 individuos / m² para el primer periodo de muestreo, y entre 1.012 y 34.717 individuos / m² para el segundo período de muestreo (Tabla 2.3). La densidad media anual de los muestreadores varió entre 29.787 y 4.063 individuos / m² para el primer año de muestreo y entre 13.482 y 10.088 individuos / m² para el segundo período de muestreo. La talla del individuo de mayor tamaño en el primer período de muestreo fue de 24,99 mm y en el segundo período fue de 32,04 mm.

Se detectaron diferencias significativas para el primer período de muestreo en la talla media, la densidad media y la densidad de juveniles al comparar ambos sectores de la CHY (extremo vs. centro); pero no se detectaron diferencias significativas al comparar la biomasa y los individuos ≥ 15 mm (Tabla 2.4). Para el segundo período de muestreo, se detectaron diferencias significativas en la talla media y en la biomasa media; no se detectaron diferencias en la densidad media, en la densidad de juveniles ni en la densidad de individuos ≥ 15 mm (Tabla 2.4). Sin embargo, al considerar únicamente los primeros siete meses del segundo período de muestreo (aquellos que cuentan con dos replicas; Tabla 2.4) se detectaron diferencias

significativa en la densidad media en los individuos ≥ 15 mm (Test de Kruskal-Wallis, $H = 9,8000$; $p = 0,0017$).

En el período 1999 hubo hasta 8 meses con más de un 20% del total representado por individuos juveniles (Tabla 2.3) mientras que en el período 2000-2001, hubo hasta 3 meses con más de un 20% del total representado por individuos juveniles (Tabla 2.3). En ambos períodos de muestreo el momento de máximo asentamiento de individuos juveniles fue entre julio y octubre. En el primer período de muestreo se observa un segundo período con gran asentamiento de individuos juveniles, entre los meses de febrero y marzo. En estos meses, la presencia de individuos juveniles fue mayor en el extremo de la CHY que en el sector central (Tabla 2.3).

Al analizar las DFTs para los distintos muestreadores puede observarse: 1) mayor presencia de individuos ≥ 15 mm para el sector central de la CHY que en el sector del extremo de la margen izquierda (Tabla 2.3; Figuras 2.5 – 2.7; Anexo I) y se observa también que para el segundo período de muestreo las tallas máximas alcanzadas son mayores que las alcanzadas durante el primer período de muestreo (Tabla 2.3; Figuras 2.5 – 3.7; Anexo I).

Los resultados en cuanto a la biomasa se muestran en las figuras 2.3 y 2.4. La biomasa media máxima (en g de masa visceral seca) fue de 178,8 g y de 337,1 g para el primer y segundo período de muestreo respectivamente (Tabla 2.3). Se observa el crecimiento en biomasa de la población considerada a partir de entre el quinto y el séptimo mes de muestreo (Figura 2.3). No se detectaron diferencias significativas entre la biomasa de los primeros cinco meses de muestreo comparadas con los segundos cinco meses de muestreo en cada sector, con excepción del sector extremo de la margen izquierda para el primer período de muestreo (test de Kruskal-Wallis; $H = 6,000$, $p = 0,0143$). Las variaciones en la biomasa de la población considerada se corresponden con lo observado para un individuo de 15 mm (Figura 2.4). En la figura 2.4 puede observarse también un aumento de la biomasa conjuntamente con el aumento de la temperatura, aunque no se encontraron correlaciones estadísticamente significativas.

Aspectos poblacionales de L. fortunei en un ambiente humano invadido

Tabla 2.3 Datos obtenidos en cada fecha de muestreo para cada muestreador. La densidad está expresada como individuos / m². La biomasa está expresada en gramos. E = Muestreadores retirados en el extremo de la margen izquierda de la CHY; C = Muestreadores retirados en el centro de la CHY. DE = Desvío estándar.

	E1				E2				C1				C2			
	Densidad		%	Biomasa	Densidad		%	Biomasa	Densidad		%	Biomasa	Densidad		%	Biomasa
	Total	Juveniles			Total	Juveniles			Total	Juveniles			Total	Juveniles		
11/02/1999	7.221	4.083	56		1.025	550	50									
23/02/1999									13.083	4.967	37	25,8				
10/03/1999	17.825	13.200	74	14,6	9.492	8.283	87		12.717	2.021	15	41,3				
11/04/1999	15.650	7.021	44	24,2	12.317	8.450	68		15.517	2.533	16	71,7	1.529	492	32	
08/05/1999	11.750	121	1	15	12.929	7.929	61		7.454	1.825	24	12,9	3.658	942	25	11,3
12/06/1999	7.363	596	8	26,3					13.308	3.092	23	57,9	3.163	500	15	7,5
17/07/1999	29.133	17.900	61	27,5									4.296	1.358	31	12,1
14/08/1999	51.346	35.067	68	37,9					4.483	608	13		3.217	933	29	
16/09/1999	48.383	26.200	54	61,7					14.767	2.383	16	47,5	2.729	646	23	8,8
22/10/1999	66.933	34.567	51	150,8					11.917	683	5	77,9	4.442	938	21	27,9
26/11/1999	42.267	10.700	25	178,8					14.783	450	3	111,3	9.467	854	9	60,4
28/12/1999									16.500	183	1	150,4				
Promedio anual	29.787	14.946		28,3	8.941	6.303			11.145	1.378		63,4	4.063	833		18,3
(± DE)	(21.152)	(13.135)		(61,25)	(5.485)	(3.841)			(3.749)	(1.748)		(43,02)	(2.369,20)	(285,63)		(20,51)

Aspectos poblacionales de L. fortunei en un ambiente humano invadido

Tabla 2.3 Continuación.

	E3				E4				C3				C4			
	Densidad		% Juveniles	Biomasa	Densidad		% juveniles	Biomasa	Densidad		% Juveniles	Biomasa	Densidad		% juveniles	Biomasa
	Total	Juveniles			Total	Juveniles			Total	Juveniles			Total	Juveniles		
10/07/2000	5.183	4.183	80	3,3	7.325	5.533	75	14,6	3.913	42	1	40,8	3.842	208	5	34,2
13/09/2000	5.016	2.283	45	8,3	6.450	2.858	44		2.463	25	1	43,8	4.296	283	6	
18/10/2000	5.025	1.775	35	15,4	8.917	3.367	37	23,3	4.458	108	2	105,8	4.821	42	0,8	89,2
28/11/2000	2.533	320	12	14,2	10.133	1.283	12	47,5	3.525	0	0	124,6	3.992	17	0,4	110,4
28/12/2000	12.416	216	1	66,3	34.717	433	1	202,9	3.567	700	19	95,4	8.267	1617	19	208,8
29/01/2001	1.012	41	4	4,2	2.417	88	3	15,4	25.983	8117	31	308,8	20.067	3583	17	228,3
26/02/2001	6.941	866	12	30	23.133	500	2	161,7	16.600	383	2		19.467	2933	15	194,6
27/03/2001	15.083	1.183	7	36,3					32.617	4450	13	337,1	28.133	2417	8	244,2
25/04/2001	27.666	2.216	8	172,1	19.433	1.867	9	140,8	8.983	1933		15,4				
29/05/2001	20.000	166	0,8	106,3	8.817	850	9	18,3					21.833	2117	9	51,3
Promedio anual	10.088	1.325	13	45,6	13.482	1.864	13	78,1	11.312	1750		134	12.746	13468		145
(± DE)	(8.578)	(1.314)		(55,01)	(10.265)	(1.772)		(77,44)	(11.224)	(2794)		(122,51)	(9.541)	(1.373)		(83,9)

Tabla 2.4 Comparación de densidades (media, juveniles e individuos ≥ 15 mm), talla media y biomasa entre sitios de la Central Hidroeléctrica Yacyretá. H = índice H; gl = grados de libertad; P = probabilidad. * = diferencias significativas.

	H	gl	P
Período 1999			
Densidad total	6,074	1	0,0137*
Densidad juveniles	9,168	1	0,0025*
Densidad individuos ≥ 15 mm	0,024	1	0,6221
Talla media	3434	1	0,000*
Biomasa	0,0707	1	0,7903
Período 2000 – 2001			
Densidad total	0,1428	1	0,7624
Densidad juveniles	0,9142	1	0,7055
Densidad individuos ≥ 15 mm	3,2914	1	0,0696
Talla media	2541	1	0,000*
Biomasa	3,8628	1	0,0494*

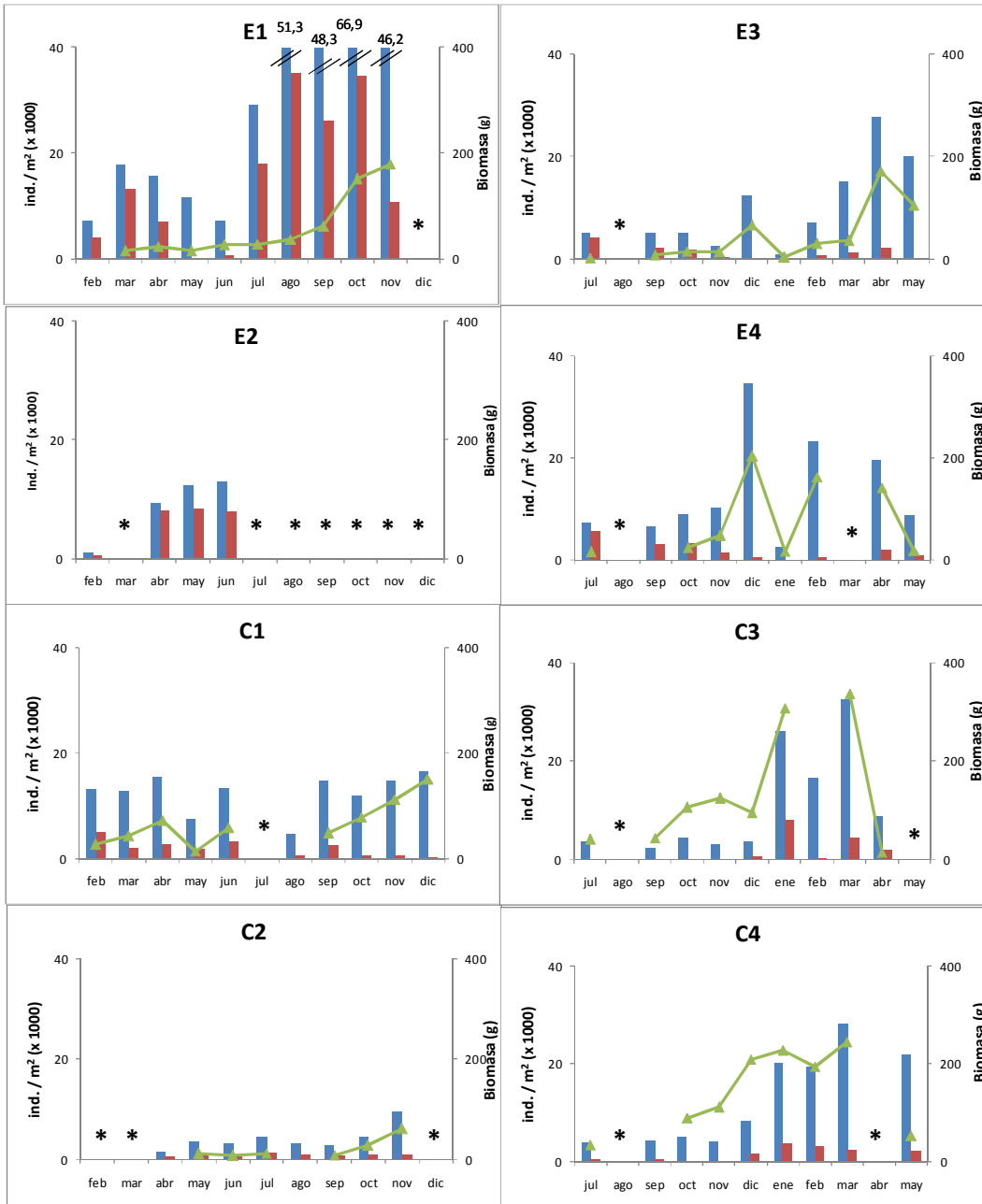


Figura 2.3 Densidad total (individuos / m²) para cada muestreador (barras azules), juveniles (barra roja) y biomasa media en gramos (línea verde). E = Muestreadores retirados en el extremo de la margen izquierda; C = Muestreadores retirados en el centro. * = sin datos. Las figuras de la izquierda corresponden al primer período de muestreo; las figuras de la derecha corresponden al segundo período de muestreo.

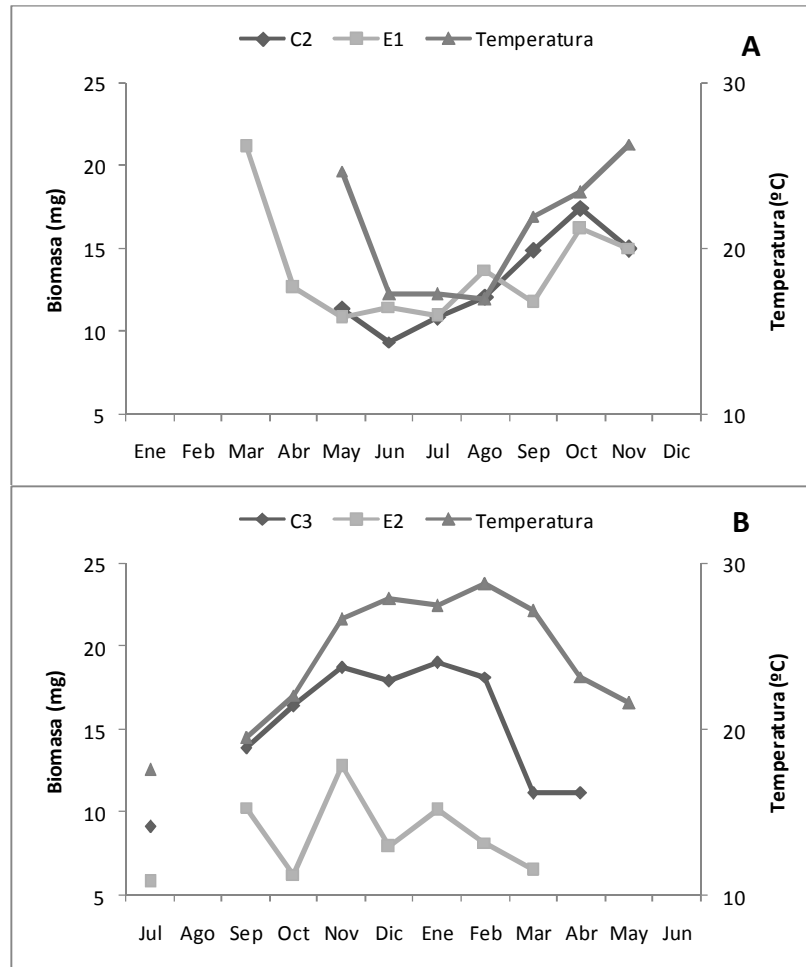


Figura 2.4 Variación anual de la biomasa de un individuo de 15 mm. Se muestra solo un patrón para cada sector de la CHY para mayor simplicidad. La temperatura es un promedio de la medida en cada sector de la CHY. A, primer período de muestreo; B, segundo período de muestreo.

2.3.2 Crecimiento individual

Las figuras 2.5 a 2.7 muestran las DFTs obtenidas para cada conjunto de muestras analizadas a los cuales se le ajustó el modelo de von Bertalanffy. La figura 2.8 muestra el crecimiento estimado de las distintas cohortes utilizadas. Para el primer período de muestreo se reconocieron entre 9 (para el conjunto de muestras C2) y 10 cohortes (para los conjuntos C1 y E1); para el segundo período de muestreo se reconocieron entre 11 (para los conjuntos de muestras C3 y C4), 12 (para el conjunto de muestras E3) y 17 cohortes (para el conjunto de muestras E4). Las DFTs a los que no

se ajustó ningún modelo de crecimiento se muestran en el Anexo I. En la tabla 2.5 se presentan los valores obtenidos para cada parámetro; en la tabla 2.6 se muestran las modas obtenidas por descomposición de las distintas DFTs. La tabla 2.7 muestra los parámetros de los modelos de von Bertalanffy reinterprelando los datos publicados por Maroñas *et al.* (2003). La constante de crecimiento menor estimada para CHY fue de 1,37 y la mayor fue de 1,60 (Tabla 2.5); la constante de crecimiento menor estimada con los datos extraídos de la literatura fue de 1,13. La figura 2.10 muestra tres curvas de crecimiento obtenidas en la CHY conjuntamente con una curva calculada a partir de la reinterpretación de datos publicados por Maroñas *et al.* (2003).

Tabla 2.5 Parámetros del modelo de von Bertalanffy estimado para cada cohorte y cada conjunto de muestras.

		t_0	k	L_∞	R^2
E3	C1	0,27	1,6	29,47	0,98
	C2	0,57	1,5	29,47	0,98
	C3	0,74	1,44	29,47	0,98
C3	C1	0,07	1,37	32,63	0,99
	C2	0,5	1,45	32,63	0,98
	C3	0,64	1,53	32,63	0,99
C4	C1	0,22	1,49	33,68	0,99
	C2	0,38	1,43	33,68	0,99
	C3	0,55	1,39	33,68	0,98

Tabla 2.6 Cohortes utilizadas en cada conjunto de muestras para ajustar los modelos de von Bertalanffy. Cada valor representa la moda obtenida por descomposición unimodal de las distintas Distribuciones de Frecuencia de Tallas.

Partes del año	E3			C3			C4		
	C1	C2	C3	C1	C2	C3	C1	C2	C3
0,23				6,39					
0,31				9,47					
0,41								9,04	
0,52	10,00			14,17			6,32	11,74	
0,70	15,00	5,65		18,75	7,04		11,87	16,49	5,44
0,80	16,00	8,84		19,50	12,09	6,73	14,85	18,96	10,26
0,91	17,90	10,42	6,81	22,34	14,31	10,70	18,06	21,29	13,87
0,99	20,00	12,98	8,42	23,56	17,79	14,06	18,76	23,12	15,34
1,08		15,30	11,54	24,90	18,70	15,57	20,44	24,23	17,38
1,15		18,00	12,00				22,89	25,97	19,22
1,23	24,29	18,47	14,21	26,49	20,61	20,61		26,75	20,79
1,31			16,74						
1,41	25,00						26,00		
1,52									24,00
1,70			21,00						26,00
1,80					27,00	27,00			27,00
1,91									
1,99					28,85	28,85			
2,08				31,00					
2,15							32,00	32,00	32,00
2,23	28,00	28,00	28,00						

Tabla 2.7 Parámetros del modelo de von Bertalanffy obtenidos para los datos de Maroñas *et al.* (2003).

	t_0	K	L_∞	R^2
C1	0,27	1,23	26,25	0,95
C2	-0,007	1,13	26,25	0,98

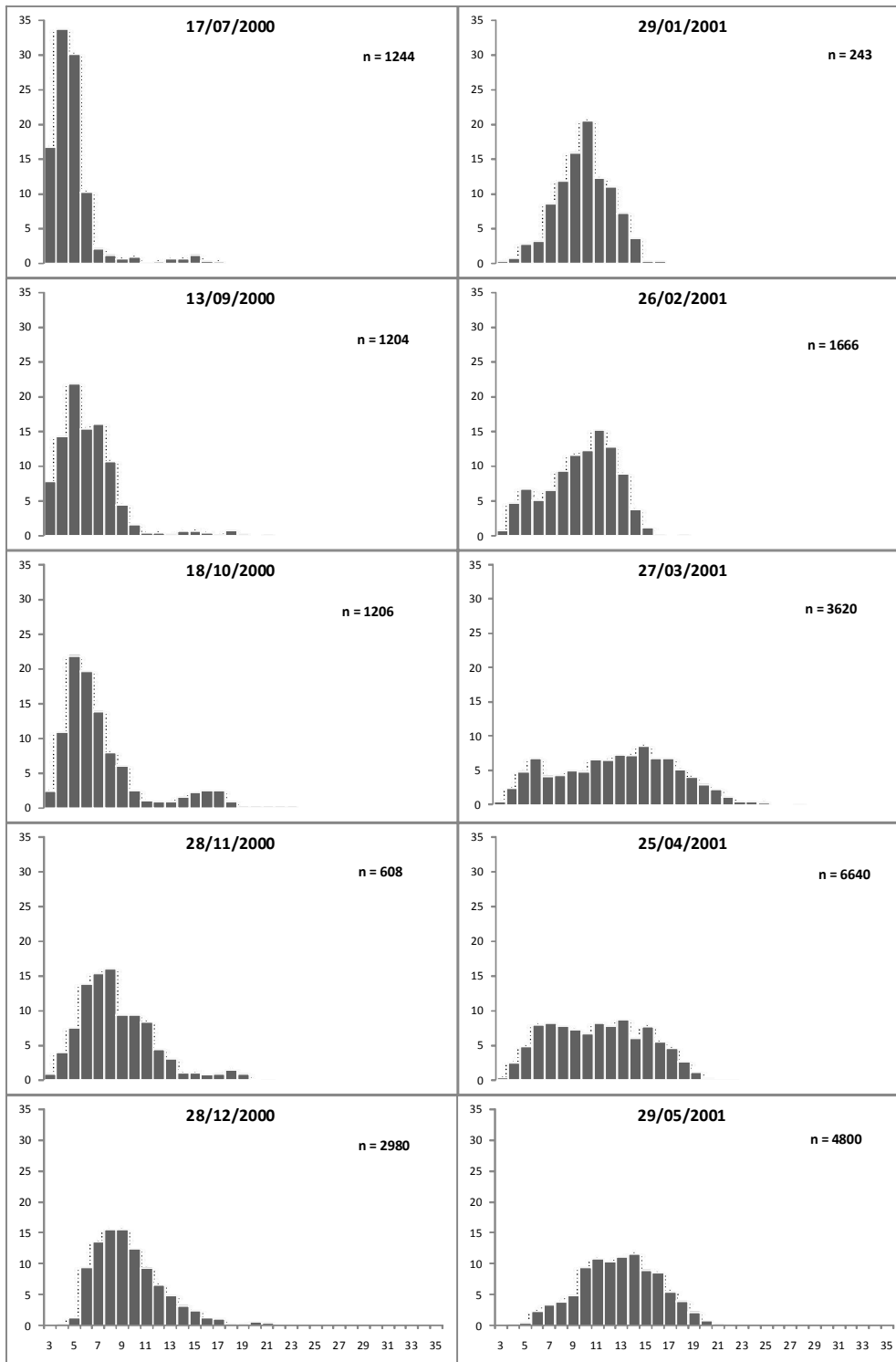


Figura 2.5 Distribución de frecuencia de tallas para el conjunto de muestras del extremo izquierdo de la CHY (E3). Las frecuencias se expresan como porcentajes para facilitar comparaciones entre grupos de muestras. n: número de individuos considerados.

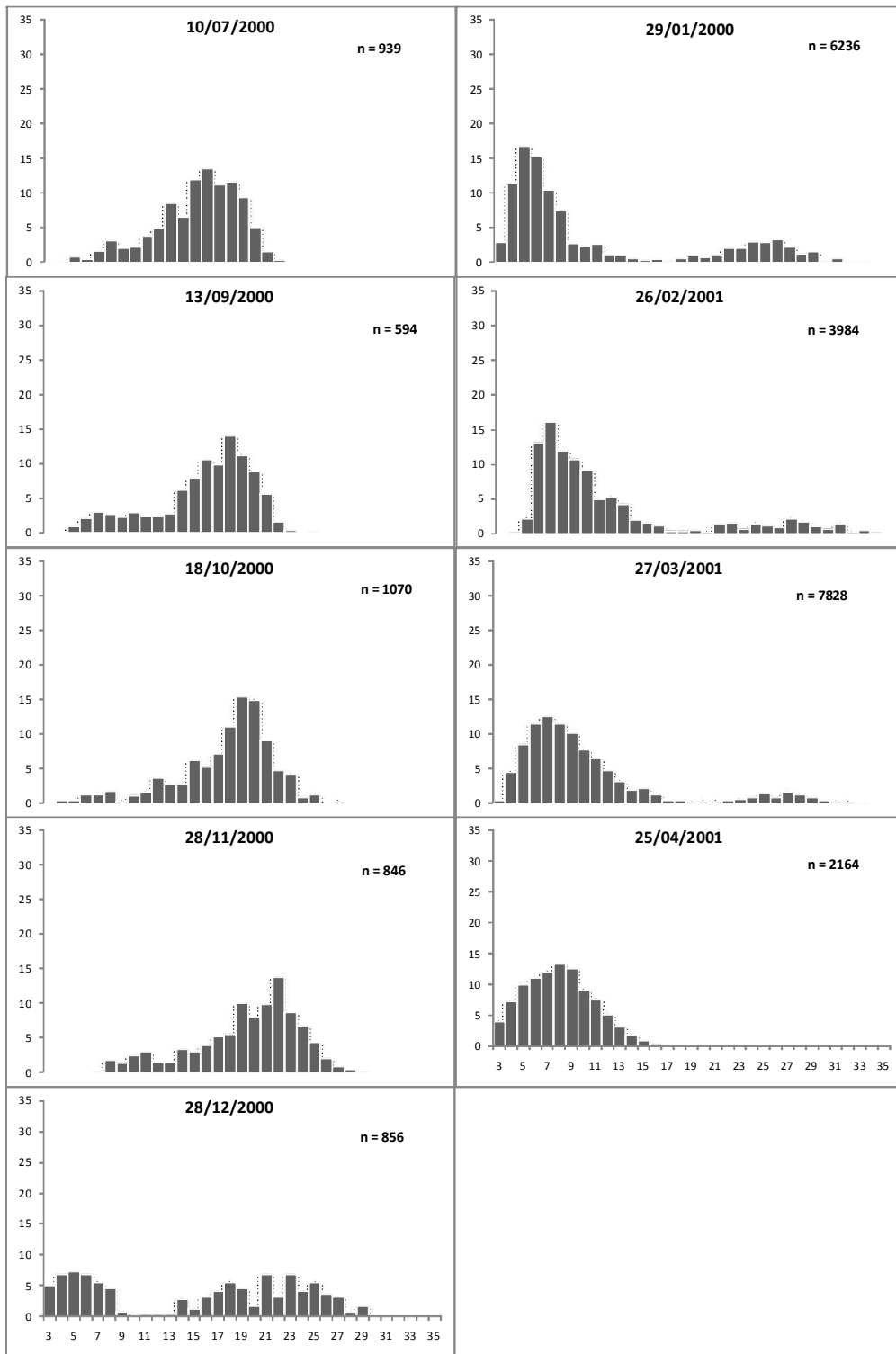


Figura 2.6 Distribución de frecuencia de tallas para el conjunto de muestras del centro de la CHY (C3). Las frecuencias se expresan como porcentajes para facilitar comparaciones entre grupos de muestras. n: número de individuos considerados.

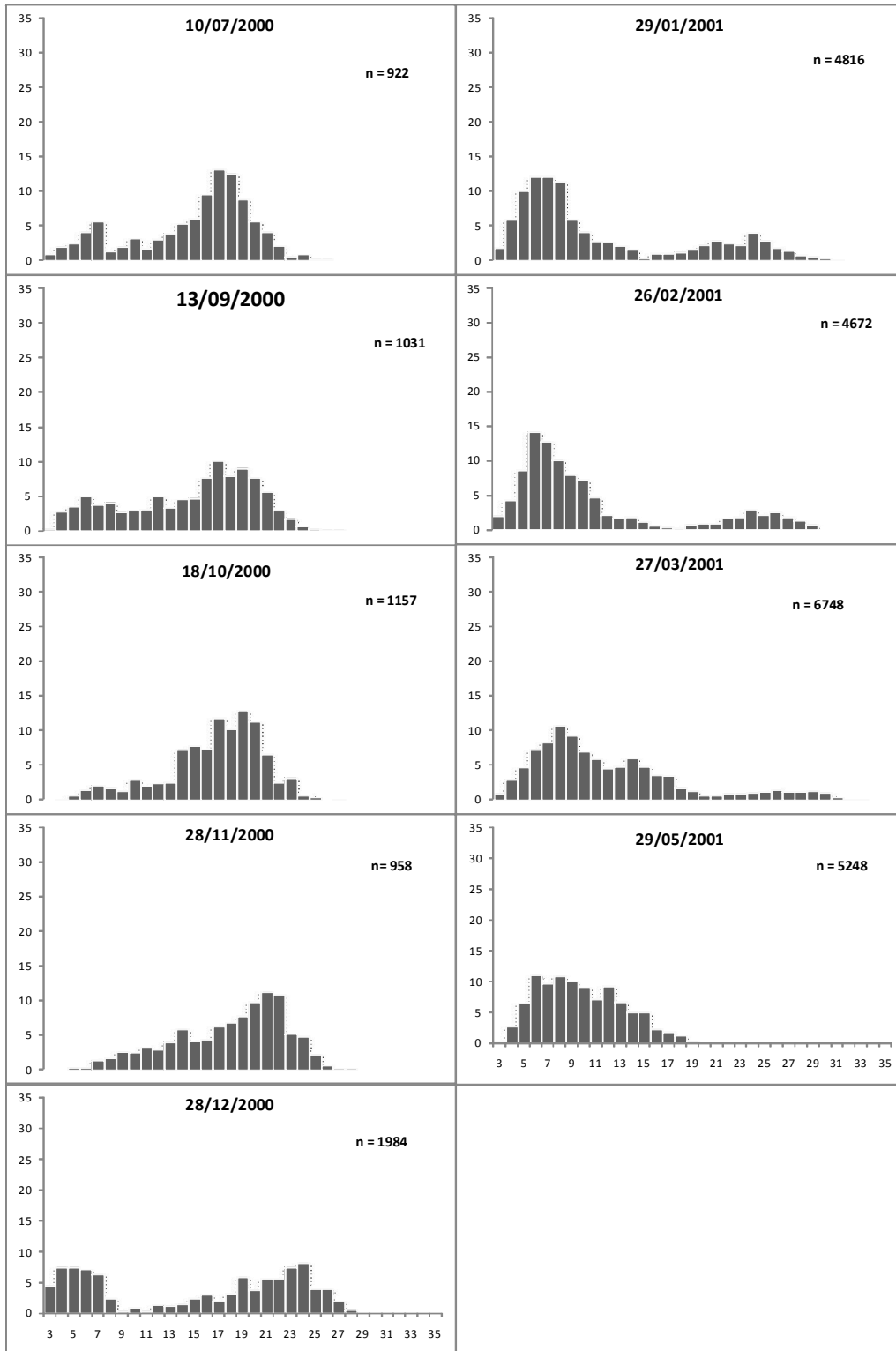


Figura 2.7 Distribución de frecuencia de tallas para el conjunto de muestras del centro de la CHY (C4). Las frecuencias se expresan como porcentajes para facilitar comparaciones entre grupos de muestras. n: número de individuos considerados.

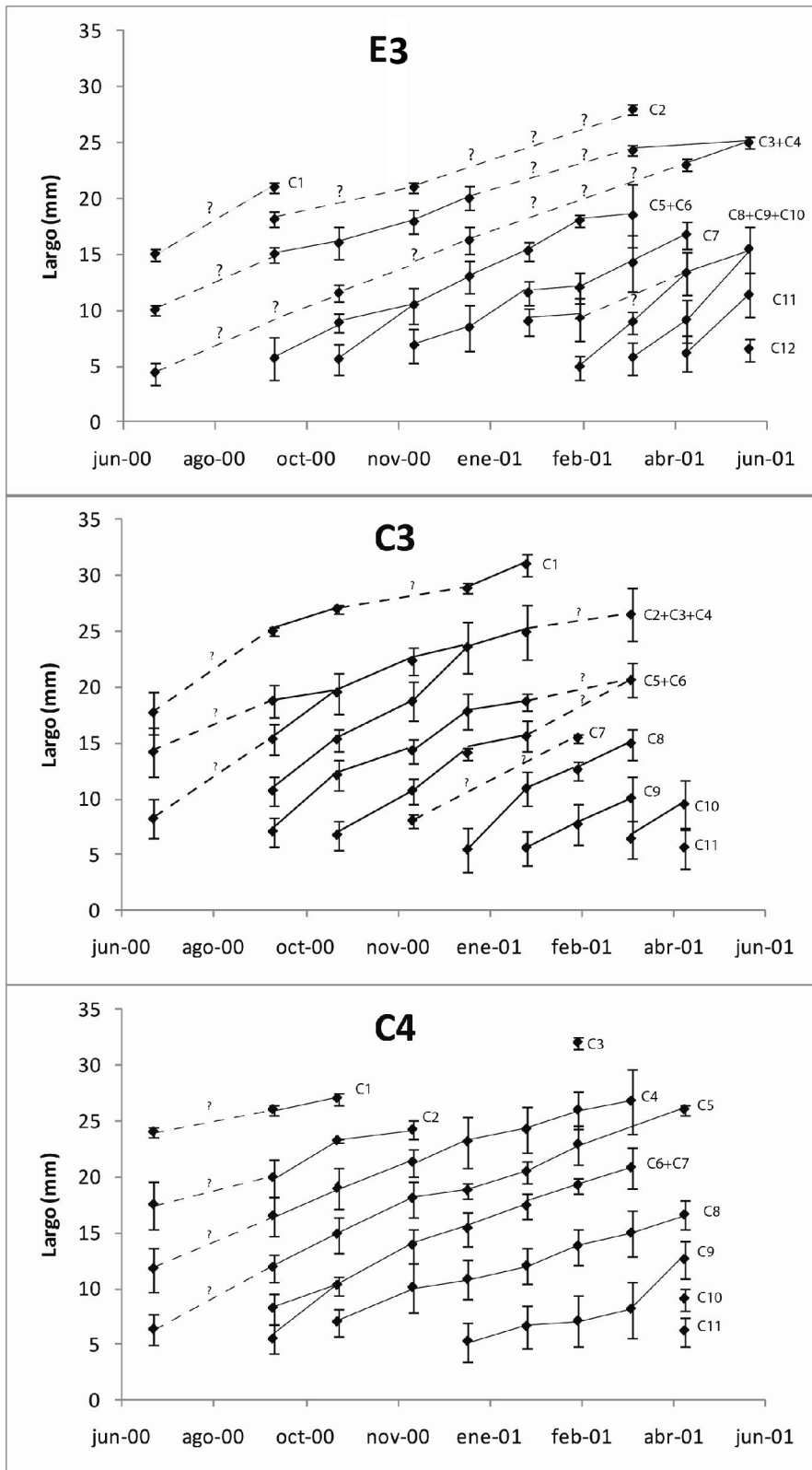


Figura 2.8 Crecimiento estimado de las distintas cohortes (C1, C2... Cn) utilizadas para ajustar los modelos de von Bertalanfy. Las líneas punteadas indican probable evolución.

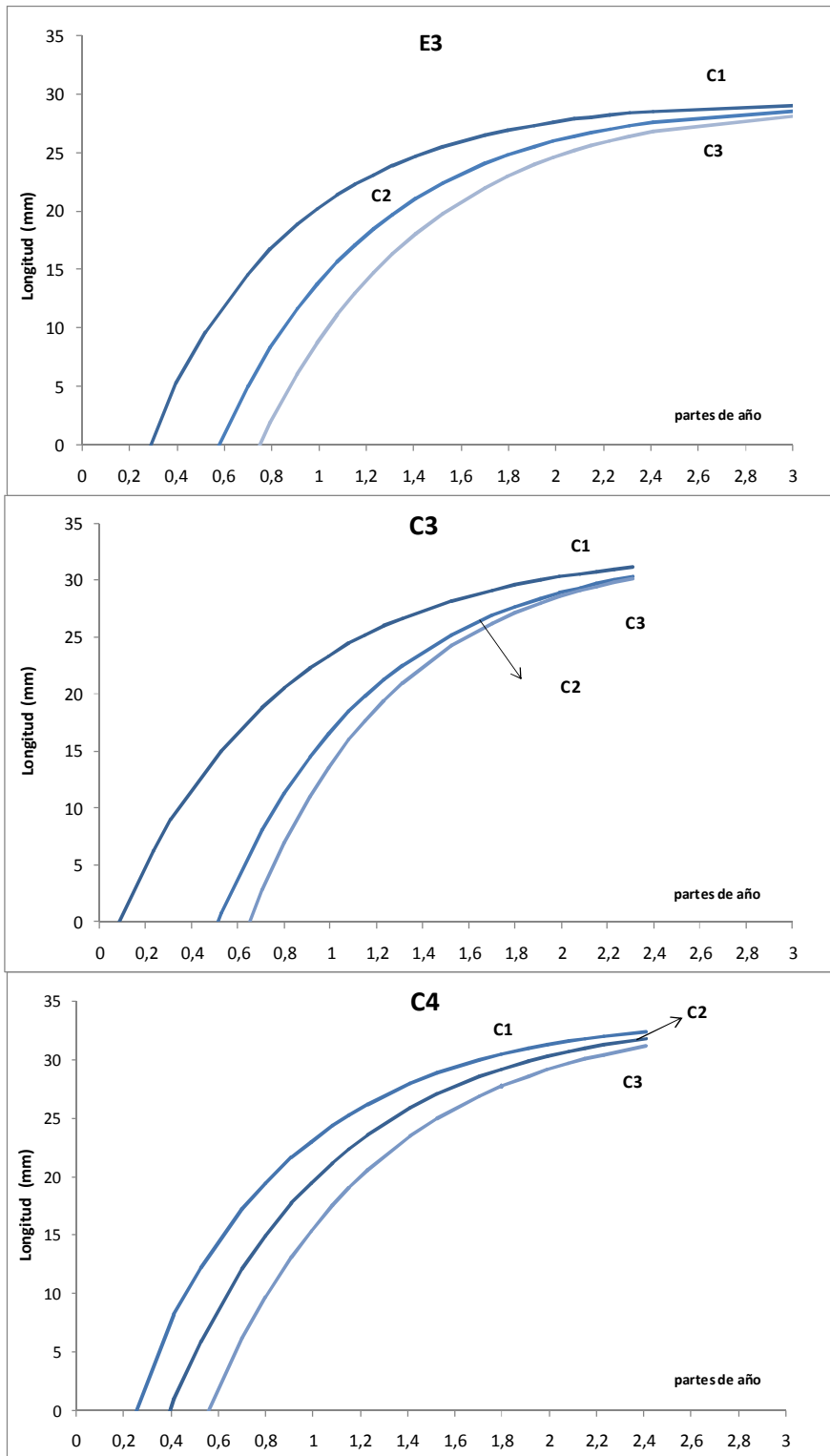


Figura 2.9 Ajustes al modelo de von Bertalanffy hechos con los conjuntos de muestras E2, C3 y C4. En cada conjunto de curvas, C1, C2 y C3 hacen referencia a las tres cohortes para cada monitor, según la tabla 2.4

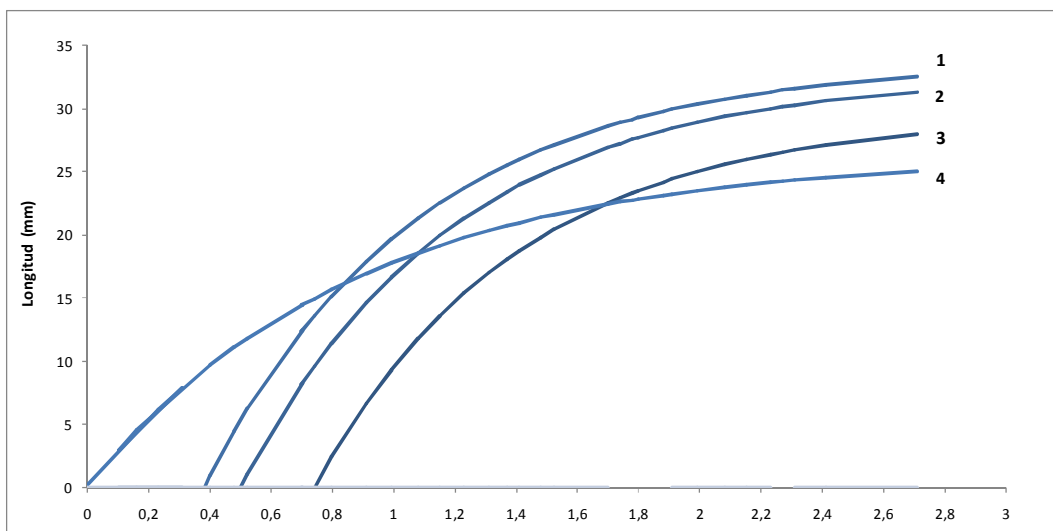


Figura 2.10 Distintos ajustes obtenidos en este trabajo de tesis doctoral y reinterpretaciones de las publicadas en Maroñas *et al.* 2003. 1 = Cohorte 2, en C4 (Tabla 2.4); 2 = Cohorte 2, en C3 (Tabla 2.4); 3 = Cohorte 3, en E2 (Tabla 2.4); 4 = Cohorte 2, con datos de Maroñas *et al.* 2003 (Tabla 2.6).

2.4 Discusión

2.4.1 Densidad, biomasa y talla media

Se detectaron diferencias significativas en las densidades media y de juveniles y la talla media en el sector izquierdo de la CHY y existen diferencias significativas con respecto a la talla media y la biomasa media en el sector central de la CHY. Sin embargo, al analizar únicamente aquellos meses con dos réplicas se detectan diferencias significativas entre los dos sectores. Las diferencias en la talla media y la densidad de los juveniles e individuos ≥ 15 mm pueden inferirse al observar las DFTs en ambos sectores de la CHY (Anexo I; Figuras 2.5 – 2.7). En estas distribuciones se ponen de manifiesto la importancia de las tallas menores en el extremo de la CHY y de las tallas mayores en el centro.

Las diferencias en la talla media entre ambos sectores podrían ser asociadas con la velocidad de la corriente del agua. Darrigran *et al.* (2007a) mencionan menores velocidades de corriente para los extremos de la CHY que para el centro de la misma.

Asimismo, Uryu *et al.* (1996) señalan que los individuos pequeños (< 15 mm) se desprenden con mayor facilidad que los individuos grandes (≥ 15 mm). El sector extremo de la CHY sería entonces un sitio que permite a los individuos pequeños permanecer asentados en los muestreadores, situación observable en la incidencia de los juveniles en el sector extremo de la CHY (Tabla 2.2). La situación inversa se daría en el sector central, en el cual la mayor velocidad del agua podría asociarse con la baja densidad de los individuos < 15 mm. Uryu *et al.* (1996) demostraron que los individuos ≥ 15 mm son los que muestran una sujeción más efectiva al sustrato.

Con respecto a la biomasa media, esta fue mayor en el sector central de la CHY que en el sector extremo (Tabla 2.2), explicable por una mayor densidad de individuos grandes (≥ 15 mm) en el centro de la CHY (Tabla 2.4). La ausencia de diferencias significativas en la biomasa para el primer período de muestreo coincide con una mayor densidad de individuos juveniles (menor tamaño) en el sector de la margen izquierda de la CHY. (Tabla 2.4). Otro estudio hecho con el mejillón dorado con muestreadores artificiales muestra la baja incidencia de los juveniles en la biomasa media (Sylvester *et al.* 2007b). Esto sugiere que si bien los juveniles son en algunos casos numéricamente mayor, llegando a representar más del 90% de los individuos presentes en algunas poblaciones (Boltovskoy & Cataldo 1999; Darrigran & Damborenea 2005), su aporte a la biomasa media puede ser poco significativo.

Con respecto a la variación de la biomasa de un individuo adulto promedio (15 mm) durante el período de muestreo (Figura 2.4), ésta no mostró correlación con la temperatura. La variación observada en la biomasa podría estar asociada con el ciclo reproductivo de la especie en la CHY. En general, se habla del efecto regulador de la temperatura en el crecimiento y la reproducción de bivalvos dulciacuícolas (Galbraith & Vaughn 2009) y de *L. fortunei* en particular (Darrigran *et al.* 1999, 2003). Damborenea & Penchazsadeh (2006) mencionan que, en la CHY, el desove más importante de *L. fortunei* se produciría durante los meses de otoño. En la figura 2.4 se observa que en los meses que se corresponderían con los posteriores al desove es cuando los individuos presentan la menor biomasa. Entre agosto y septiembre la biomasa comienza a aumentar en coincidencia con el aumento de la temperatura. En concordancia con lo enunciado puede observarse que la mayor densidad de juveniles ocurre en los meses posteriores al período de desove (Tabla 2.2).

Las densidades máximas del mejillón dorado varían a lo largo de su distribución en Sudamérica: 150.000 ind./m² en playa Bagliardi (Darrigran & Ezcurra de Drago 2000), entre 10.000 y 35.000 ind./m² en el Pantanal (de Oliveira *et al.* 2006, 2010a); Mansur *et al.* (2003) reportan una densidad máxima de ~ 150.000 ind./m² sobre los rizomas de *Scirpus californicus* y de ~ 33.000 ind./m² sobre troncos de *Cephalanthus glabratus* (Spreng.). Finalmente, se han reportado entre 38.000 y 122.000 ind / m² en Atucha I (Boltovskoy & Cataldo 1999), 290.000 ind./m² en el delta del Paraná (Sylvester *et al.* 2007a), ~ 250.000 ind./m² en Yacyretá (Darrigran & Damoborenea 2005), 62.000 ind./m² en la Bahía de Guaíba (Darrigran *et al.* 2003) y ~ 67.000 ind./m² en la CHY (este estudio). Estas variaciones estarían asociadas a diferencias ambientales, tales como el tipo de sustrato, la salinidad, el tipo ambiente invadido, como así también por el tiempo desde iniciada la invasión (Darrigran *et al.* 2011).

En los ambientes humanos, el impacto ocasionado por el mejillón dorado tiene una fuerte relación con el número de mejillones presentes (Tabla 3.1). Sin embargo, desde el punto de vista del impacto que pueda ocasionar en el ambiente natural, esta única estimación sería insuficiente. Se han observado cambios en transparencia del agua, la composición del sestón y del plancton y de la productividad primaria, entre otros, tanto para el mejillón dorado (Boltovskoy *et al.* 2009a; Rojas Molina & de Paggi 2008) como para el mejillón cebra (Higgins & Vander Zanden 2010; Strayer 2009). Para el mejillón dorado, la capacidad de filtración se incrementa con la talla de los individuos y la temperatura del agua (Sylvester *et al.* 2005). Strayer *et al.* (2011) registraron en trabajos de campo con *D. polymorpha*, que poblaciones menos densas tienen una mayor tasa media de filtrado. Por lo expuesto, un mejor estimador del impacto en el ambiente natural, sería no solo tener en cuenta la densidad total sino la estructura de tallas de la población, ya que con iguales densidades los efectos provocados sobre el ambiente dependerán en cierta medida de la estructura de tallas (Young *et al.* 1996).

2.4.2 Crecimiento individual

El estudio del crecimiento individual mediante la descomposición de frecuencia de tallas, es una técnica muy difundida, que ha sido utilizada tanto con *L. fortunei* (Maroñas *et al.* 2003) como con *D. polymorpha* (Nalepa *et al.* 1995), como con otras especies dulciacuícolas o marinas (Fiori & Morsán 2004; Sousa *et al.* 2008a). Existen otras técnicas para medir el crecimiento individual en bivalvos (*e.g.* análisis de anillos de crecimiento, marcado y recaptura) pero estos son de difícil ejecución en el campo. Asimismo, la estimación de la tasa de crecimiento es impracticable si no se pueden distinguir las cohortes individuales (Darrigran *et al.* en prensa; Nakano *et al.* 2011), en especies como el mejillón dorado que poseen múltiples desoves a lo largo del año, esta metodología (*i.e.* análisis mediante descomposición de frecuencia de tallas) presenta la complejidad añadida de la superposición de cohortes, donde resulta imposible asignar a cohortes a los individuos de mayor talla de la población (Figura 2.5 - 2.8, Anexo I). Discriminar entre las distintas cohortes en una DFT posee un grado de subjetividad, por lo que los resultados obtenidos con esta técnica deben tomarse con recaudos (Chase & Bailey 1999; Nalepa *et al.* 1995). No obstante, los resultados conseguidos para los tres grupos de muestras considerados (E3, C3 y C4) son consistentes entre sí (Figura 2.9; Tablas 2.5). Otros modelos teóricos de crecimiento individual (*e.g.* Verhulst) fueron ensayados pero no se obtuvieron mejores ajustes que los obtenidos con el modelo de von Bertalanffy, asimismo, este último modelo es con el cual se ha trabajado con el crecimiento individual de *Limnoperna fortunei* por otros autores y por lo tanto la comparación con los mismos es mas efectiva.

En los primeros estudios acerca del crecimiento individual del mejillón dorado se calcularon constantes de crecimiento de 1,0 (Boltovskoy & Cataldo 1999) o de 0,3 (Maroñas *et al.* 2003). Belz *et al.* (2010) estimó constantes de crecimiento mucho mayores, entre 2,0 y 3,2. Reinterpretando la información publicada por Maroñas *et al.* (2003) se obtuvieron constantes de crecimiento similares a las obtenidas en este trabajo de tesis doctoral (constantes de crecimiento de entre 1,37 y 1,60 para la CHY y entre 1,13 y 1,23 para lo reinterpretado de Maroñas *et al.* [2003]) (Tablas 2.4 y 2.6).

Las diferencias observadas entre los valores publicados y los reinterpretados en esta tesis pueden tener distinto origen. Maroñas *et al.* (2003) ajustaron un modelo de

crecimiento asumiendo una tasa de crecimiento moderada. Existen estimaciones que muestran un incremento de hasta 5 mm en períodos de un mes, representando hasta un 120 % de incremento en la talla (Darrigran *et al.* en prensa; Nakano *et al.* 2011). Cabe mencionar que los trabajos realizados por Maroñas *et al.* (2003) y por Darrigran *et al.* (en prensa) fueron realizados ambos en una zona de clima templado, por lo que las diferencias observadas entre estos dos trabajos no podrían atribuirse a diferencias climatológicas.

Se observa diferencias en la tasa de crecimiento desde un área de clima templado a otra subtropical. En la figura 2.10 puede observarse un crecimiento más moderado para la población estudiada en la playa Blagiardi (Maroñas *et al.* 2003) que lo que ocurre en la CHY. Asimismo, se registraron constantes de crecimiento de entre 2.0 y 3.2 en Itaipú (Belz *et al.* 2010), con un L_{∞} mayor al registrado para playa Blagiardi y la CHY (Maroñas *et al.* 2003 y este estudio).

Sin embargo, otros factores además de la temperatura podrían afectar la tasa de crecimiento. Se ha visto en bivalvos marinos (McDonald & Thompson 1985) y dulciacuícolas (Czarnołęski *et al.* 2003) que la abundancia y calidad del alimento tienen un efecto regulador del crecimiento que no pueden ser explicados por cambios en la temperatura y la latitud. Variables fisicoquímicas como NH_4 , NO_3 o BOD_5 pueden afectar la tasa de crecimiento en bivalvos dulciacuícolas (Bauer 1992). En el caso del mejillón dorado, se ha sugerido que el crecimiento individual puede verse influenciado por la densidad de coespecíficos (Sardiña *et al.* 2009).

Hasta la fecha, no existen datos para evaluar cuál de estos factores (temperatura, tipo de alimentación, variables fisicoquímicas, efectos denso-dependientes) es el que tiene mayor incidencia en las variaciones observadas en las curvas de crecimiento. Futuros estudios en crecimiento de *L. fortunei* deberían tener en cuenta el efecto de la alimentación o las distintas variables fisicoquímicas (Bonel 2011).

Capítulo III

Toxicología de compuestos vegetales sobre
Limnoperna fortunei y su potencial uso
como biocidas

Toxicología de compuestos vegetales sobre *Limnoperna fortunei* y su potencial uso como biocidas

3.1 Introducción

Existe una gran variedad de técnicas a utilizar para mitigar los efectos del *macrofouling* en instalaciones invadidas, que se pueden agrupar en tratamientos químicos y tratamientos no-químicos (Darrigran & Pereyra en prensa) (Tabla 3.1). Entre otros, se han ensayado con distintas especies de bivalvos incrustantes el uso de biocidas oxidantes (Cataldo *et al.* 2003) y no oxidantes (Darrigran *et al.* 2007b), el uso biocidas de origen vegetal (Angarano *et al.* 2009) y de tratamientos combinados (Costa *et al.* 2011b); se han evaluado en laboratorio también la eficacia de tratamientos como la anoxia (Perepelizin & Boltovskoy 2011a) o agua a altas temperaturas (Perepelizin & Boltovskoy 2011b). La principal ventaja de los tratamientos químicos radica en que pueden ser desarrollados para proteger toda la instalación invadida, desde la toma de agua hasta la descarga; los limitantes a su uso son: 1) Las regulaciones existentes para la descarga de material tóxico en el medio ambiente. 2) Los potenciales daños de los químicos sobre los materiales constitutivos del sistema (Mackie & Claudi 2010).

Los ensayos hechos con estadios adultos de *L. fortunei* con hipoclorito de sodio muestran 100% de mortalidad a 1,2 mg/L en 576 h (Morton *et al.* 1976) y 408 h con 1 mg/L a 25°C (Cataldo *et al.* 2003). Similares resultados fueron obtenidos para otras especies: para *D. polymorpha* se alcanza un 95% de mortalidad en 552 h de exposición a 1 mg/L, (Van Benschoten *et al.* 1995), para *Mytilus edulis* (Linnaeus, 1758), se necesitan 480 h para alcanzar 100% de mortandad con 1 mg/L (Lewis 1985) y para *Perna viridis* Linnaeus 1758, se necesitan 816 h para alcanzar un 100% de mortandad expuesto a 1 mg/L de cloro residual aplicado continuamente (Rajagopal 1997). Si bien existen molusquicidas que muestran ser efectivos en períodos de tiempo más cortos, tanto para *L. fortunei* (Cataldo *et al.* 2003, Darrigran & Damborenea 2001) como para *D. polymorpha* (Britton & Dingman 2011; Waller *et al.* 1994) estos pueden ser

agresivos contra especies no blanco y muchas veces resultan ser comparativamente más costosos. Existen opciones distintas del cloro (*e.g.* ozono) que han sido exitosamente aplicadas (Rolla & Mota 2010) o están siendo evaluadas en laboratorio (*e.g.* sustancias derivadas de cannabinoides, biocidas químicamente diseñados), (Aldridge *et al.* 2006; Angarano *et al.* 2009; Costa *et al.* 2008; Mackie & Claudi 2010). La principal desventaja de estos métodos es su elevado costo (Mackie & Claudi 2010). El segundo problema con estas sustancias es que rara vez se ensaya el producto en especies no objetivo (Costa *et al.* 2008, 2011b) por lo que es difícil hablar de su efecto ecotoxicológico en el medio ambiente.

Tabla 3.1 Diferentes tratamientos utilizados para controlar invasiones acuáticas en ambientes humanos.

Tratamientos químicos	Tratamientos no-químicos
Cloro	Filtros de arena
Dióxido de cloro	Filtros proactivos
Cloraminas	Luz ultravioleta
Ozono	Cubiertas anti- <i>fouling</i>
Brominas	Electroshock
Peroxido de hidrógeno	Protección catódica
Permanganato de potasio	Acústica
Biocidas	Agitadores de alta velocidad
	Incremento de la velocidad de la corriente del agua
	Shock térmico
	Desecación
	Congelamiento
	Privación de oxígeno
	Limpieza mecánica

A partir de la prohibición de la utilización de pinturas con tribulestaño (TBT) en el medio marino (IMO 2007), la tendencia mundial, es la búsqueda de agentes biocidas

“ambientalmente amigables” utilizables en ambientes humanos invadidos (Angarano *et al.* 2009; Caprari 2006; Qian *et al.* 2010).

Con la finalidad de encontrar biocidas naturales, se probaron tres preparaciones comerciales de taninos (ECOTEC®-UA, ECOTEC®-L y ECOTEC®-MC) y una solución de aceite de Nim como potenciales biocidas para *L. fortunei*.

Los taninos son un grupo de compuestos vegetales del quebracho colorado (*Schinopsis balansae* Engl) astringentes, principalmente glucósidos complejos de catecol y pirogalol. Consisten principalmente de residuos de ácido gálico que están vinculados a la glucosa a través de enlaces glucosídicos (Hagerman 2002). Los taninos se encuentran prácticamente en cualquier cuerpo de agua en donde haya gran cantidad de materia vegetal en descomposición. Los taninos son importantes en la industria (e.g. alimenticia, curtiembres) (Chung *et al.* 1998; Hagerman 2002) y comunes en todo tipo de comidas (vinos, cereales, frutos y bebidas) (Bennick 2002). Investigaciones recientes muestran que los taninos podrían utilizarse en pinturas *antifouling* contra organismos marinos como *Balanus amphitrite* (Darwin, 1854) y *Polydora ligni* (Webster, 1879) (Pérez *et al.* 2007; Stupak *et al.* 2003).

Por su parte, el árbol de Nim (*Azadirachta indica* A. Juss), es conocido como el “milagro verde” (Girish & Shankara Bhat 2008) o como el “árbol omnipotente” (Brahmachari 2004), y es una de las plantas más estudiadas en el mundo, con enormes potenciales como fuente de pesticidas, insecticidas y agroquímicos (Brahmachari 2004; Girish & Shankara Bhat 2008). Recientemente, la Organización Mundial para la Salud recomendó su utilización como fuente segura de compuestos antivíricos, antifúngicos y antisépticos (WHO 2007). El aceite de las semillas de Nim es utilizado como fungicida, insecticida y repelente de insectos (Girish & Shankara Bhat 2008) dada la baja toxicidad contra organismos no-blanco y la baja persistencia en el ambiente de la Azadiractina, su principal componente activo (Schaaf *et al.* 2000). Ambas características son deseables para un biocida.

En este contexto, se plantearon dos hipótesis: (i) los dos compuestos mencionados presentan toxicidad para *L. fortunei*; (ii) los dos estadios del mejillón dorado (fase bentónica y planctónica) presentan diferencias en su respuesta frente a estos compuestos.

Para contrastar estas hipótesis se realizaron ensayos para determinar la dosis letal de los compuestos con el mejillón dorado y con las especies no blanco, el cladócero *Daphnia magna* (Straus, 1820), la compuesta *Lactuca sativa* (Linnaeus, 1753) y el pez de agua dulce *Cnesterodon decemmaculatus* (Jenyns, 1842).

3.2 Material y métodos

3.2.1 Características de los compuestos ensayados

3.2.1.1 Preparados de taninos

Se ensayaron tres preparados comerciales de taninos (ECOTEC-UA[®], ECOTEC-L[®] y ECOTEC-MC[®]). Los preparados de taninos utilizados en estos ensayos son obtenidos por UNITAN SAICA a través de un proceso que consta de tres etapas: (1) molido y difusión, (2) evaporación primaria y (3) tratamiento químico y secado en seco.

El proceso de molido (etapa 1) incluye cortar la materia prima (truncos de quebracho colorado) y sumergirlos en agua a 130° hasta obtener una solución de taninos con 10 a 11% de materia sólida. La evaporación primaria (etapa 2) permite obtener una solución de taninos con un 55% de materia sólida. Finalmente, en el tratamiento químico (etapa 3) se diluye la solución de taninos con bisulfato de sodio y se la seca hasta obtener un producto final en forma de polvo; las características de cada producto son controladas en esta etapa. (Más detalles son provistos en <http://www.unitan.net/esp/unitan/index.html>).

Aunque todos los productos son preparados de taninos, estos difieren en alguna de sus propiedades fisicoquímicas (Tabla 3.2) y porcentaje de polifenoles naturales (74, 70 y 86% para ECOTEC-UA[®], ECOTEC-L[®] y ECOTEC-MC[®], respectivamente).

Tabla 3.2 Características de los preparados de taninos testeados (UNITAN SAICA). ND = datos no disponibles.

	ECOTEC-UA®	ECOTEC-L®	ECOTEC-MC®
Taninos (% max)	74,0	70,0	86,5
Color rojo observado	1,9 - 2,2	1,1 - 1,4	ND
Color amarillo observado	3,8 - 4,2	2,2 - 3,0	ND
pH	4,7 - 5,1	4,0 - 4,4	4,1 - 4,5
Insolubles (% max)	0,0	2,0	2,5
Cenizas (% max)	7,2	5,5	2,5
Humedad (% max)	9,0	9,0	9,0

3.2.1.2 Solución de Aceite de Nim

La solución de Aceite de Nim testada consiste en un 60% de aceite de Nim puro y un 40% de emulsionante. Como emulsionante se utilizó alcohol graso etoxilado de 9 moles (Tablas 3.3 y 3.4). La preparación de la solución se realizó en autoclave (Integración Química S.R.L.).

Tabla 3.3 Características del aceite de Nim (Integración Química S.R.L.).

Propiedades físicas y químicas	
Estado	Líquido
Apariencia	Líquido marrón viscoso
pH	7 ± 0,02
Punto de ebullición	más de 100 °C
Punto de congelación	14 °C
Temperatura de auto-combustión	encima de los 200 °C
Temperatura de combustión	más de 170 °C - Sin peligro de incendio
Temperatura de descomposición	Ninguno
Solubilidad en agua	Emulsifica con agua
Densidad específica	84 mg / L
Formula molecular	No aplicable
Peso molecular	No aplicable
Estabilidad y reactividad	
	Estable en condiciones normales de empaque y almacenamiento
Estabilidad química	almacenamiento
condiciones a evitar	Sin restricciones
Productos de descomposición	Ninguno
Polímeros peligrosos	Ninguno
Irritación en ojos	No irritante
Irritación en piel	No irritante
Sensibilidad en piel	No sensibiliza

Tabla 3.4 Características del alcohol graso etoxilado (Integración Química S.R.L.).

Propiedades físicas y químicas	
Estado	Pastoso
Color	Blanco
Punto de ebullición	300°C
Punto de fusión	25°C
Valor de inflamación	175°C
Auto-inflamación	500°C
Densidad	1,06 g/ml
Solubilidad en agua	Soluble
pH	7,0
Estabilidad y reactividad	
Condiciones a evitar	No se conocen
Productos de descomposición peligrosos	Ninguno
Descomposición térmica	> 300°C
Biodegradación	Biodegradable

3.2.2 Toma de muestras

3.2.2.1 *Limnoperna fortunei*

Todos los ejemplares de *L. fortunei* se colectaron en la costa bonaerense del Río de la Plata, en el espigón de pesca del Club de Pesca La Plata (34°49'S – 57°56'O). Los individuos adultos se retiraban con el río en bajante, los estadios larvales con el río en creciente (Figura 3.1 A).

Las larvas se colectaron filtrando 1.000 L de agua a través de una malla de 45µ de abertura. Las muestras fueron transportadas inmediatamente al laboratorio (SERByDE, Museo de La Plata (FCNyM), Universidad Nacional de La Plata).

La recolección de individuos adultos de *L. fortunei* se realizó en forma manual. Los individuos fueron inmediatamente transportados al laboratorio, en donde se los

aclimató durante quince días en acuarios de 10 L (conductividad = $1 \pm 0,3$ mS/cm, temperatura = 23 ± 2 °C; ph = $7 \pm 0,5$). Se realizó un recambio completo del agua de los acuarios los tres primeros días, y un recambio parcial (5 L) cada dos días hasta completar los quince días de aclimatación. Se los alimentó diariamente con alimento para peces TetraMin®, con excepción de los dos días previos al ensayo.

3.2.2.2 *Daphnia magna*, *Lactuca sativa* y *Cnesterodon decemmaculatus*

Los neonatos de *D. magna* utilizados en las pruebas de toxicidad fueron obtenidos de cultivos del laboratorio CIMA de la Facultad de Ciencias Exactas, UNLP y mantenidos en condiciones estandarizadas (conductividad 1,0 mS/cm; dureza 215 mg/L de CO₃Ca; alcalinidad 180 mg/L de CO₃Ca, rango de ph $7,6 \pm 0,2$, temperatura 20 ± 2 °C, fotoperiodo 16:8 luz:oscuridad y alimentados con algas chlorococales).

Las semillas de *L. sativa* se obtuvieron de proveedores comerciales correspondiendo las mismas a la variedad mantecosa con un 98% de germinación garantizada.

Los individuos de *C. decemmaculatus* fueron capturados en arroyos de la zona, en campos con baja a nula utilización de agroquímicos. Los mismos fueron aclimatados por al menos 40 días en laboratorio y alimentados a diario con alimento para peces de marca comercial genérica. Para las pruebas de toxicidad se utilizaron alevines de segunda o tercera generación nacidos de los individuos capturados en el campo.

3.2.3 Pruebas de toxicidad

3.2.3.1 *Ensayos con Limnoperna fortunei*

Cuando se trabaja con moluscos bivalvos, uno de los mayores problemas estriba en su capacidad para detectar los biocidas y cerrar sus valvas o reducir su actividad sifonal en respuesta (Cataldo *et al.* 2003; McMahon *et al.* 1993), lo que obliga a un aumento en los tiempos de exposición a las sustancias tóxicas.

3.2.3.1.1 Preparados de taninos

Los ensayos de toxicidad con *L. fortunei* se realizaron con dos estadios: larvas y adultos discriminando dentro de estos últimos dos tallas (13 ± 1 mm y 19 ± 1 mm). Todos los ensayos se realizaron por triplicado utilizando al menos cinco concentraciones y un testigo, y agua de red declorinada para las diluciones. Durante los ensayos se controlaron, la temperatura (23 °C, min = $21,8$ °C, max = $23,7$ °C), el fotoperíodo (16:8 luz:oscuridad), el pH ($7,31$, min = $7,08$, max = $7,55$) y la conductividad ($1 \pm 0,3$ mS/cm)

Los ensayos con adultos se realizaron seleccionando, el día previo al inicio de cada ensayo, a los individuos por talla, utilizando un calibre (precisión $0,01$ mm). A continuación se colocaron 12 individuos, seleccionados al azar, en cajas de Petri, las cuales se sumergieron en 250 ml de agua de dilución. Al cabo de 24 h se eliminaron de cada cápsula de Petri aquellos ejemplares que no lograron fijarse mediante el bisco a la cápsula (Waller *et al.* 1994). A continuación, las cápsulas de Petri con los individuos adheridos fueron sumergidas en 250 ml de las distintas concentraciones a ensayar, durante 168 h (siete días). Los controles negativos se realizaron de manera similar, utilizando la misma agua con la que se realizaron las diluciones. Transcurrido el período de exposición se controló la mortalidad, considerando como muertos a los individuos que no mostraron reacción frente al estímulo mecánico (Figura 3.1).

Los ensayos con larvas se realizaron colocando 12 ml de cada concentración de taninos en cápsulas de Petri plásticas agregando a cada una entre diez y 15 larvas. Luego de 24 h de exposición se controló la mortalidad en cada cápsula de Petri bajo microscopio estereoscópico. Una larva se consideró muerta si no se la observaba nadando o con signos de actividad en su interior (por transparencia).



Figura 3.1 A. Espigón de pesca en el Club de Pesca La Plata. Detalles de los ensayos hechos en laboratorio. B. Vista de un ensayo con adultos en proceso de aclimatación. C. Ensayo iniciado, la flecha blanca destaca los testigos. D. Detalle de los individuos muertos.

3.2.3.1.2 Solución de aceite de Nim

Los ensayos con aceite de Nim se desarrollaron siguiendo el mismo protocolo a los ensayos realizados con los preparados de taninos, por lo que solo se mencionarán las diferencias entre ambos ensayos.

El protocolo de aclimatación fue el mismo para todos los ensayos. Las condiciones fisicoquímicas en los acuarios fueron controladas, siendo la temperatura de 23 °C (min = 21,2 °C, max = 24,3 °C), el fotoperíodo de 16:8 (luz:oscuridad), el pH de 7,07 (min = 6,19, max = 7.48) y la conductividad de 0,75 (\pm 0,3 mS/cm).

Basados en las experiencias con los preparados de taninos, se ensayaron tres tallas de individuos para observar si los individuos de menor talla (7 ± 1 mm), próximos a la etapa juvenil, eran más susceptibles al biocida que los de mayor talla (13 y 19 ± 1 mm). Los ensayos fueron realizados sumergiendo a los individuos en 500 ml de las

soluciones preparadas con aceite de Nim, con una exposición de 72 h. El tiempo de exposición se decidió en los ensayos preliminares, en los que se observó mortandad al cabo de 72 h.

Los ensayos con larvas se realizaron de la misma forma que los ensayos realizados con preparados de taninos.

3.2.3.2 Ensayos con Daphnia magna, Lactuca sativa y Cnesterodon decemmaculatus

Se utilizaron ensayos estandarizados de toxicidad para evaluar los potenciales efectos ecotóxicos de los productos estudiados. Los ensayos de toxicidad aguda a 24 y 48 horas de exposición con neonatos de *D. magna* se realizaron siguiendo el protocolo de USEPA (USEPA 1996a); utilizando como agua de dilución agua de red de clorinada (conductividad 1,0 mS/cm; dureza 215 mg/L de CO₃Ca; alcalinidad 180 mg/L de CO₃Ca, rango de pH 7,6 ± 0,2). Los ensayos se implementaron bajo condiciones controladas de temperatura (20 ± 2 °C) y fotoperiodo (16:8 luz:oscuridad) y sin alimentación de los neonatos. Se colocaron diez neonatos en 10 ml de cada solución y se controló la mortalidad de los mismos al cabo de 24 y 48 h. Un neonato se consideraba muerto cuando no se lo observaba nadar.

Los ensayos de germinación/elongación de la raíz con *L. sativa* se efectuaron a 120 h de exposición en oscuridad utilizando agua bidestilada como agua de dilución, de acuerdo al protocolo de USEPA (USEPA 1996b), a una temperatura de 22 ± 2 °C. Se colocaron 20 semillas de *L. sativa* en cápsulas de Petri conteniendo un papel de filtro con 3 ml de cada solución a ensayar. Las cápsulas de Petri con las semillas fueron colocadas en oscuridad durante 120 h, al cabo de las cuales se controló la germinación/elongación de las raíces.

Los ensayos de toxicidad aguda con *C. decemmaculatus* a 96 h de exposición se realizaron siguiendo el protocolo sugerido por la USEPA (USEPA 1996c). Se colocaron cinco individuos por solución, en 500 ml de solución. Los individuos fueron mantenidos sin aireación ni alimentación durante todo el período de exposición. Las soluciones se recambiaban cada 24 h. Al cabo de 96 h se controló la mortalidad en cada solución. Los

individuos se consideraban muertos si se hallaban depositados en el fondo de los potes plásticos sin signos de actividad o si se encontraban flotando sin signos de actividad.

Todos los ensayos se realizaron por triplicado utilizando al menos cinco concentraciones y un control negativo.

3.2.4 Análisis de los resultados

3.2.4.1 *Limnoperna fortunei*

Las CL_{50} (Concentración letal sobre el 50% de los organismos expuestos) fueron calculadas utilizando regresión lineal previa transformación de la concentración con logaritmo y la mortalidad a unidades Probit (Finney 1978) utilizando el programa Probit versión 1.5 de USEPA. Se consideró como CL_{100} a la menor concentración ensayada que efectivamente produce una mortandad del 100% sobre los ejemplares expuestos.

Para la comparación de la toxicidad entre los tres extractos de taninos, los dos estadios y los dos tamaños de adultos se aplicó análisis de la varianza (ANOVA) entre productos y entre estadios, aplicando un modelo lineal generalizado de pendientes homogéneas (McCullagh & Nelder 1989) considerando a los estadios y tamaños como una covariable asociada a la edad de los individuos utilizados.

3.2.4.2 *Daphnia magna*

En el caso de *D. magna* todas las estimaciones de las CL_{xx} se realizaron con el programa Probit, considerándose a la CL_1 como NOEC (concentración más alta del producto a la que no se observan respuestas con diferencias estadísticamente significativas al compararlas con el control) y a la CL_{10} como LOEC (concentración más baja del producto a la que se observa una diferencia estadísticamente significativa con respecto al control).

3.2.4.3 *Lactuca sativa*

En el caso de *L. sativa*, la IC₅₀ (concentración inhibitoria 50) se obtuvo ajustando los resultados por regresión lineal previa transformación logarítmica de la concentración utilizando como variable dependiente el porcentaje de inhibición con respecto al control negativo. La NOEC y la LOEC se obtuvieron mediante comparación *a posteriori* de Dunnett previo ANOVA (Zar 1999).

3.2.3.4 *Cnesterodon decemmaculatus*

En el caso de *C. decemmaculatus*, las estimaciones se realizaron de forma idéntica a lo realizado para *D. magna*, utilizando el programa Probit.

3.3 RESULTADOS

3.3.1 Preparados de taninos

Los resultados obtenidos para cada estadio de *L. fortunei* se muestran en la tabla 3.5. En el caso de los estadios larvales, la CL₁₀₀ obtenida fue de 400 mg/L para los tres preparados de taninos. No se obtuvo la LC₁₀₀ para los individuos adultos dado que a ninguna de las concentraciones ensayadas se obtuvo un 100% de mortandad. Los estadios larvales resultaron más susceptibles que los estadios bentónicos para los tres preparados ensayados.

En los ensayos realizados con soluciones de taninos se observó que los individuos sumergidos cerraban sus valvas y dejaban de filtrar. Este comportamiento no fue observado en los testigos, en donde los individuos continuaban con su actividad normal de filtrado. Esta información no fue cuantificada para evitar manipular a los individuos durante los ensayos.

La CL₅₀, NOEC y LOEC para *D. magna* y la IC₅₀, NOEC y LOEC para *L. sativa* se muestran en las tablas 3.6 y 3.7, respectivamente. La IC₅₀ para *L. sativa* fue mayor que la CL₅₀ calculada para todos los estadios de *L. fortunei*, y solo se superpone con el

intervalo de confianza de uno de los productos (ECOTEC®-UA) (Tabla 3.5 y 3.7). En el caso de *D. magna*, las CL₅₀ estimadas fueron mayores que las estimadas para los estadios larvales de *L. fortunei* y no hay superposición con sus respectivos intervalos de confianza (Tablas 3.5 y 3.6).

Las NOEC fueron mayores que las CL₁₀₀ observadas para larvas con los tres preparados de taninos en el caso de *L. sativa*, y solo el producto ECOTEC®-UA tuvo una NOEC ligeramente superior en el caso de *D. magna*, aunque no fue posible confirmar si estas diferencias son significativas.

El análisis de la varianza, utilizando estadios y tallas como covariables, los preparados de taninos como factores y las CL₅₀ como variables dependientes, indican que no hay efecto del tratamiento ($p \leq 0,8893$) pero que hay un efecto significativo de la covariable ($p \leq 0,00986$). El mismo análisis muestra que no hay interacción entre los factores y la covariable ($p \leq 0,07386$).

Tabla 3.5 CL₅₀ e intervalos de confianza (95%) para ambos estadios de *Limnoperna fortunei* expuestos a diferente preparados de tanino. Todas las concentraciones se expresan en mg/L.

	Adultos								
	Larvas			13 mm			19 mm		
				LC ₅₀	Límite inferior	Límite superior	LC ₅₀	Límite inferior	Límite superior
ECO-UA®	160,21	94,06	235,31	983,27	763,36	1465,61	1273,73	983,27	2066,6
ECO-L®	138,54	89,67	277,11	309,92	232,18	414,91	442,14	349,39	564,93
ECO-MC®	138,53	96,7	182,95	160,1	75,45	283,4	557,71	428,83	818,96

Tabla 3.6 CL₅₀, LOEC y NOEC de *Daphnia magna* para los ensayos a 24 y 48 h de exposición. Todas las concentraciones se expresan en mg/L.

	Ensayos a 24 h								
	CL ₅₀	Límite inferior	Límite superior	LOEC	Límite inferior	Límite superior	NOEC	Límite inferior	Límite superior
ECOTEC-UA®	896,21	823,75	994,18	584,48	508,6	644,17	412,51	323,5	479,92
ECOTEC-L®	635,76	547,42	701,14	409,54	284,01	491,18	286,15	163,06	374,91
ECOTEC-MC®	849,53	731,22	1081,05	462,62	389,17	525,78	281,87	197,26	344,7
	Ensayos a 48 h								
	CL ₅₀	Límite inferior	Límite superior	LOEC	Límite inferior	Límite superior	NOEC	Límite inferior	Límite superior
ECOTEC-UA®	348,29	322,44	370,63	248,01	207,17	276,38	188,04	142,03	221,3
ECOTEC-L®	363,65	329,78	385,82	290	224,85	322,41	241,14	162,26	282,44
ECOTEC-MC®	341,58	318,07	366,24	244,24	214,08	267,82	185,81	151,86	212,32

Tabla 3.7 IC₅₀, LOEC, NOEC y respectivos intervalos de confianza de *Lactuca sativa*. Todas las concentraciones expresadas en mg/L.

	ECOTEC-UA®	ECOTEC-L®	ECOTEC-MC®
IC ₅₀	1748,02	2005,83	2023,83
L _{inf}	1303,52	1555,61	1472,65
L _{sup}	2344,09	2586,33	2781,29
NOEC	750,00	500,00	750,00
LOEC	1000,00	750,00	1000,00

3.3.2 Solución de aceite de Nim

Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 3.8 (*L. fortunei*), Tabla 3.9 (*D. magna* y *C. decemmaculatus*) y Tabla 3.10 (*L. sativa*). La CL₁₀₀ para las larvas de *L. fortunei* fue de 500 µl/L. La CL₁₀₀ de adultos no pudo ser estimada porque no se obtuvo una mortalidad del 100% con ninguna de las concentraciones ensayadas. Coincidentemente con lo observado en el caso de los preparados de taninos, los estadios larvales resultaron más susceptibles que los estadios bentónicos. La diferencia entre las CL₅₀ de ambos estadios fue de dos órdenes de magnitud (Tabla 3.8). Las CL₅₀ estimadas para *D. magna* y *C. decemmaculatus* son dos órdenes de magnitud inferiores a las CL₁₀₀ estimada para larvas (Tablas 3.8 y 3.9).

Tabla 3.8 CL₅₀ e intervalos de confianza para la solución de aceite de Nim con todos los estadios de *Limnoperna fortunei*. Todas las concentraciones expresadas en µl/L.

	CL ₅₀	IC	
		Superior	Inferior
Larvas	8	20	2
7 ± 1 mm	241	315	171
13 ± 1 mm	249	827	101
19 ± 1 mm	122	153	98

Tabla 3.9 CL₅₀, NOEC, LOEC y respectivos intervalos de confianza para *Daphnia magna* y *C. decemmaculatus*. Todas las concentraciones expresadas en µl/L.

<i>Daphnia magna</i>								
CL ₅₀	Límite inferior	Límite superior	NOEC	Límite inferior	Límite superior	LOEC	Límite inferior	Límite superior
17	11,35	35,58	1,65	0,12	3,18	4,71	1,77	6,69
<i>Cnesterodon decemmaculatus</i>								
CL ₅₀	Límite inferior	Límite superior	NOEC	Límite inferior	Límite superior	LOEC	Límite inferior	Límite superior
						3,0		
4,92	4,01	6,09	2,08	0,97	2,83	6	1,92	3,8

Tabla 3.10. IC₅₀, LOEC, NOEC y respectivos intervalos de confianza de *Lactuca sativa*. Todas las concentraciones expresadas en µl/L.

IC ₅₀	3.020
Límite superior	12.081
Límite inferior	750
NOEC	250
LOEC	500

3.4 DISCUSIÓN

La respuesta diferencial a los productos ensayados de los distintos estadios de desarrollo del mejillón dorado está de acuerdo con lo afirmado en la literatura acerca de la vulnerabilidad de los estadios iniciales de desarrollo (Darrigran *et al.* 2007b; Maroñas & Damborenea 2006; Van Benschoten *et al.* 1995)

En el caso de los preparados de taninos, los ensayos realizados con *D. magna* y *L. sativa* muestran CL₅₀ superiores a las correspondientes para los estadios larvales de *L. fortunei* pero similares a aquellas obtenidas para los estadios adultos. La comparación de los resultados obtenidos para *D. magna* muestran que los límites de confianza inferiores correspondientes al LOEC a 24 h son superiores a las LC₅₀ de las

larvas y no difieren demasiado de las concentraciones a las cuales se observa un 100% de mortalidad en las larvas (400 mg/L). Esta evidencia sugiere que los productos evaluados podrían ser considerados como larvicidas, ya que las concentraciones a las que tendrían la efectividad buscada en un pesticida (mortalidad del 100%) con solo una dilución mínima en un sistema acuático no presentarían efectos agudos sobre las dos especies no blanco ensayadas.

Los resultados obtenidos para la solución de aceite de Nim muestran una alta toxicidad de la misma para las especies *D. magna* y *C. decemmaculatus* (Tablas 3.8 y 3.9). Sobre la base de estos resultados se recomienda utilizar esta solución en su presente forma solo en sistemas cerrados y evitar su vertido en sistemas de aguas continentales. Sobre la base de esta recomendación, y dado el comportamiento de la solución ensayada se recomienda la utilización de derivados del aceite de Nim en tratamientos de corta duración. En los ensayos realizados se obtuvieron efectos letales con adultos en exposiciones de 72 h. Estos tiempos mejoran a los observados con derivados del cloro (Cataldo *et al.* 2003; Morton *et al.* 1976) o con tratamientos no químicos (*e.g.* anoxia) (Perepelizin & Boltovskoy 2011a) lo que permitiría usar productos derivados del aceite de Nim por menos tiempo en las instalaciones invadidas, minimizando los costos de aplicación.

Sobre la base de los resultados obtenidos y a otros ya publicados (Darrigran *et al.* 2007b; Maroñas & Damborenea 2006; Pereyra *et al.* 2011), el esfuerzo de las investigaciones con productos biocidas para el mejillón dorado, debe ser puesto en el estadio larval. Estudios hechos con *D. polymorpha* muestran la vulnerabilidad de los estadios larvales. Fisher *et al.* (1994) muestran que para cinco de seis productos ensayados en experiencias de 24 h, las larvas son más vulnerables que los estadios adultos. McMahon *et al.* (1993), trabajando con polímeros catiónicos, muestran que las larvas son más sensibles que los adultos. Darrigran y Damborenea (2001) y Darrigran *et al.* (2007b) llegan a conclusiones similares trabajando con *L. fortunei* expuestos a polímeros cuaternarios. Estos últimos autores, mencionan que un biocida que no cause mortalidad pero que prevenga el asentamiento de las larvas debe considerarse como exitoso. Yebra *et al.* (2004) y Angarano *et al.* (2009) mencionan que los productos que no tengan capacidad biocida (*i.e.* aquellos que causen algún grado

de mortalidad) pero que si posean características fuertemente anestésicas, inhibición del asentamiento o que causen desprendimiento de los organismos ya asentados, deben tenerse en cuenta como estrategias de control. Siguiendo esta línea de pensamiento, estudios hechos en el medio marino con pinturas *antifouling* con taninos de quebracho colorado (Pérez *et al.* 2007; Stupak *et al.* 2003) muestran el potencial de estos productos. Sobre la base de estos resultados y los aquí presentados para el medio dulceacuícola, se recomienda profundizar el estudio y desarrollo de estos productos derivados del quebracho colorado como estrategia de control en instalaciones humanas.

Los productos aquí ensayados, y los nuevos formulados que surjan en base a estos, pueden ser una opción. Estos productos se presentan como una alternativa entre la aplicación de productos económicos y ambientalmente costosos (*e.g.* cloro) y otros cuyo costo los vuelven completamente impracticables (*e.g.* ozono).

Capítulo IV

Impacto de *Limnoperna fortunei* sobre
Corbicula fluminea (Müller, 1774)

Impacto de *Limnoperna fortunei* sobre *Corbicula fluminea* (Müller, 1774)

4.1 Introducción

Como se mencionó en la introducción del Trabajo de Tesis, *Limnoperna fortunei* es capaz de adherirse sobre otros organismos (Darrigran 2002). En lo particular, se ha observado este fenómeno con especies de bivalvos nativos en Argentina, como *Anodontites trapesialis* (Lamarck 1819) (Darrigran 2002) y *Anodontites sp* (Karatayev *et al.* 2010) y en Brasil, *Diplodon deceptus* (Simpson 1914) y *Leila blainvilliana* (Lea 1834) (Mansur *et al.* 2003). El mismo fenómeno se observó sobre la almeja asiática, *Corbicula fluminea* (Müller 1774), tanto en Argentina como en Brasil (Darrigran 2002; Mansur *et al.* 1999). Asimismo, se ha observado *biofouling* del mejillón dorado sobre otros organismos: el cangrejo *Aegla platensis* (Schmitt 1942) (Darrigran 2002; Lopes *et al.* 2009) (Figura 4.1), el caracol *Pomacea canaliculata* (Lamarck 1822) (Darrigran & Damborenea 2005; Mansur *et al.* 2003) y las raíces de *Eichornia crassipes* (Mart.) Solms, en Brasil (Darrigran & Damborenea 2011; Marçal & Callil 2008).

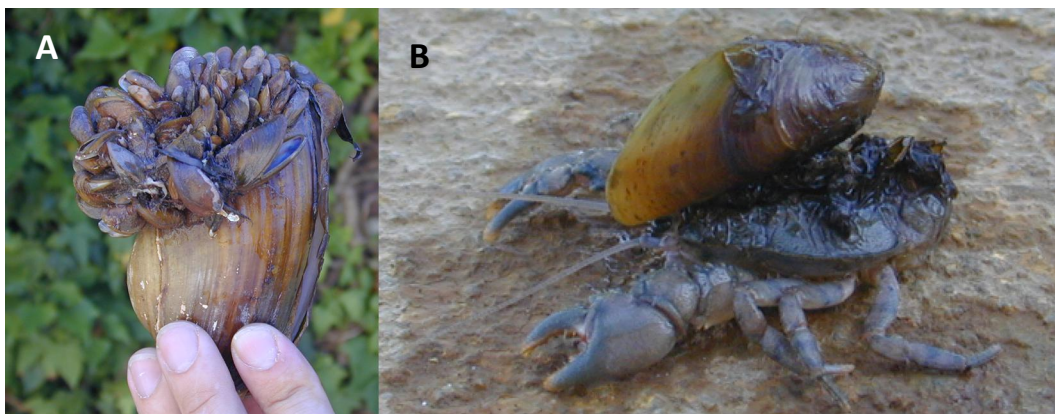


Figura 4.1. Adhesión de *Limnoperna fortunei* a distintos organismos. A = *Anodontites sp.*; B = *Aegla platensis*.

El mismo tipo de *biofouling* ocurre entre el mejillón cebra, *Dreissena polymorpha*, y los bivalvos de las áreas que este coloniza, tanto en Norteamérica como en Europa (Burlakova *et al.* 2000; Schloesser *et al.* 1996; Strayer 2009). Así, se han observado masivos eventos de biofouling por parte de *D. polymorpha* sobre bivalvos (especialmente aquellos de la familia Unionidae) (Tucker 1994), seguidos de drásticos descensos tanto de sus tamaños poblacionales como de la diversidad específica (Nalepa 1994; Ricciardi *et al.* 1996, 1998; Schloesser & Nalepa 1994; Schloesser *et al.* 1997, entre otros). Se han reportado adhesiones de hasta 10.000 mejillones por bivalvo (Nalepa 1994) así como efectos letales de los mismos con adhesiones de solo 10 mejillones por uniónido (Ricciardi *et al.* 1996). Se han propuesto varias causas posibles para explicar este impacto negativo. Entre ellas: imposibilitar el desplazamiento y el enterramiento, impedir el cierre de las valvas (con la consecuente exposición a depredadores y parásitos), impedir la apertura de las valvas (impidiendo la respiración), oclusión de los sifones, competencia por el alimento, producción de desechos metabólicos y ahogamiento en el sustrato por enterramiento (Baker & Levinton 2003; Haag *et al.* 1993; Ricciardi 2003; Schloesser & Nalepa 1994). Además de los efectos mencionados, los estudios realizados con el mejillón cebra en Norteamérica, muestran efectos agudos sobre la condición fisiológica de los bivalvos que sufren *biofouling*: estrés y síntomas de inanición, mayor tasa de excreción de amonio, derivas hacia tasas metabólicas menores y aumentos en la tasa de filtración, entre otros (Baker & Hornbach 1997, 2000; Haag *et al.* 1993).

En la región Neotropical hay al menos 7 familias de bivalvos dulciacuícolas, con aproximadamente 18 géneros en la Argentina (Bogan 2008; Rumi *et al.* 2008) (Tabla 5.1). Si bien la sistemática y biología (ciclo reproductivo, natalidad, mortalidad, distribución, etc.) de las especies de bivalvos nativos en la Argentina está poco estudiada (Rumi *et al.* 2008) se puede afirmar que estas presentan ciertas características que los vuelven susceptibles de sufrir adhesiones sobre sus valvas (*i.e. fouling*) por parte del mejillón dorado: son bivalvos infaunales que viven semienterrados sobre sustratos blandos. Esto ya se ha observado para especies del género *Anodontites* (Darrigran 2002) (Figura 4.1).

Tabla 4.1 Familias y géneros de bivalvos de aguas continentales presentes en la Región Neotropical y en la Región Neoártica. * = Familias con géneros presentes en la Argentina; a = familias presentes en la Región Neotropical; b = Familias presentes en la Región Neoártica; 1 = géneros introducidos en la Región Neotropical; 2 = géneros introducidos en la Región Neoártica. Tabla confeccionada con datos de Bogan (2008) y Rumi *et al.* (2008).

Subclase	Orden	Familia	Género		
Pteriomorphia	Mytiloidea	Mytilidae*	<i>Limnoperna</i> ¹		
			<i>Mytella</i>		
Paleoheterodonta	Unionoidea	Hyriidae*	<i>Castalia</i>		
			<i>Diplodon</i>		
			<i>Anodontites</i>		
		Etheriidae*	<i>Fossula</i>		
			<i>Leila</i>		
			<i>Monocondylea</i>		
			<i>Mycetopoda</i>		
		Heterodonta	Veneroidea	Corbiculidae*	<i>Corbicula</i> ^{1,2}
					<i>Neocorbicula (=Cyanocyclus)</i>
				Solecurtidae*	<i>Tagelus</i>
<i>Byssanodonta</i>					
Sphaeriidae*	<i>Eupera</i>				
	<i>Musculium</i>				
	<i>Pisidium</i>				
Dreissenidae ^b	<i>Sphaerium</i>				
	<i>Dreissena</i> ²				
Myoidea	Erodonidae*	<i>Erodona</i>			

Con el fin de establecer el efecto de adhesiones de *L. fortunei* sobre bivalvos infaunales superficiales se llevaron a cabo ensayos en medio estáticos, a diferentes niveles de adhesión. La especie de estudio fue la almeja asiática, *Corbicula fluminea* (Figura 4.2), presente en grandes densidades en el área de estudio.

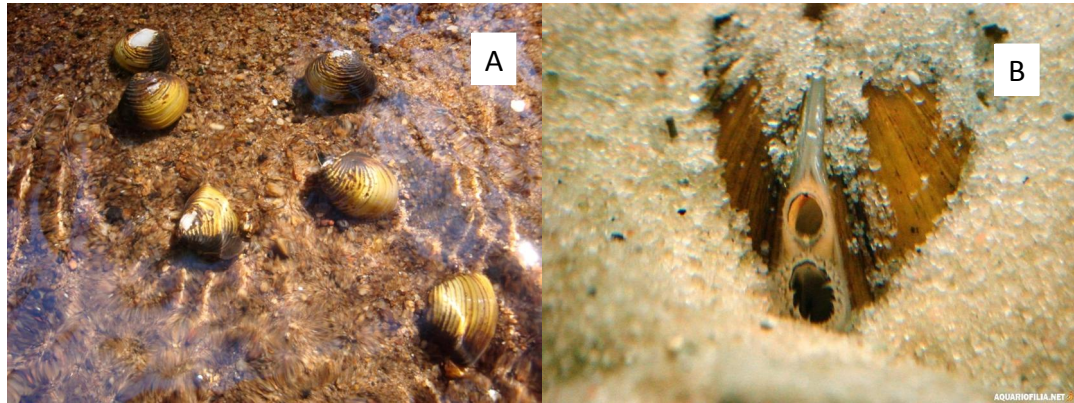


Figura 4.2 A. *Corbicula fluminea* en el campo; B. detalle de un individuo filtrando en su posición natural en el sustrato arenoso.

Corbicula fluminea, originaria del sudeste asiático, amplió su rango de distribución mediante introducciones mediadas por el hombre en América, Europa y Asia (Darrigran 2002; Karatayev *et al.* 2003; Munjiu & Shubernetski 2010; Sousa *et al.* 2008b). A igual que las especies nativas de la región de los géneros *Anodontites* y *Diplodon*, *C. fluminea* habita enterrada en el sedimento (*i.e.* infaunal), dejando expuestas sus valvas (infaunal superficial) y volviéndose susceptible de ser utilizada como sustrato por parte del mejillón dorado, tal como fue reportado en observaciones de campo (Darrigran 2002; Mansur *et al.* 2003), lo cual la convierte en una especie apropiada para este estudio. Dado que es una especie muy abundante y de fácil recolección y mantenimiento en el laboratorio *C. fluminea* resultó ser la especie mas adecuada para este estudio.

A fin de contrastar la hipótesis de trabajo: El *fouling* de *Limnoperna fortunei* sobre *Corbicula fluminea* la afecta negativamente, se realizaron estudios para establecer el estrés y la mortalidad provocados por el *biofouling* de *L. fortunei* sobre *C. fluminea*.

4.2 Material y métodos

4.2.1 Área de estudio y toma de muestras

Todos los ejemplares utilizados en estos ensayos se recolectaron en la costa bonaerense del Río de la Plata (34°49'S – 57°56'O).

Los muestreos fueron realizados manualmente con el río en bajante (Figura 4.3). En cada muestreo se recolectaron entre 200 y 300 ejemplares de *C. fluminea*, los cuales fueron transportados inmediatamente al laboratorio para su aclimatación.

Los individuos de *L. fortunei* fueron recolectados de igual forma que lo descrito en el capítulo 4 (sección 4.2.2.1).



Figura 4.3 Sitio de muestreo.

4.2.2 Trabajo de laboratorio

Una vez en el laboratorio, todos los especímenes de *C. fluminea* fueron medidos (alto = desde el umbo hasta el margen ventral; precisión 0,01 mm) y numerados consecutivamente con un marcador indeleble y con esmalte transparente para evitar que se borre el número a lo largo de todo el periodo de estudio (Figura 4.4 A, B). Los individuos de *C. fluminea* fueron colocados en acuarios para su aclimatación (figura 4.4 C), los cuales contenían entre 3 y 5 cm de arena tamizada, lavada y congelada durante 48 h para eliminar los organismos presentes. Se utilizó este sustrato por ser el que la especie selecciona (Belanger *et al.* 1985; Schmidlin & Baur 2007) y el más común en la zona de muestreo. Se utilizó poco sustrato porque las pruebas preliminares mostraron gran mortalidad con una mayor cantidad de sustrato. Los acuarios contenían aproximadamente 200 L de agua, de los cuales se cambiaban diariamente 50 L con un sistema abierto de circulación de agua. Los acuarios fueron aireados artificialmente y contaron con un fotoperiodo artificial (16 h luz: 8 h oscuridad). Los individuos fueron alimentados a diario con aproximadamente 1,5 L de un cultivo de algas *ad hoc*

preparado especialmente con este fin (Figura 4.4 D). El cultivo contenía algas unicelulares (*Achnanthydium sp.*, *Monoraphidium sp.*, *Oocystis sp.* y *Schenedesmus sp.*), las cuáles son consumidas por *C. fluminea* sin ningún tipo de preferencia (Boltovskoy *et al.* 1995). El agua del cultivo fue recambiada cada dos o tres días para evitar la proliferación de algas cianofitas. Los parámetros fisicoquímicos (temperatura, pH y conductividad) fueron controlados en todos los acuarios. Los individuos fueron aclimatados durante dos semanas antes de cada experimento. No se registraron muertes durante el período de aclimatación ni durante el transcurso de los ensayos.

Los especímenes de *L. fortunei* fueron aclimatados en un acuario de 200 L con aireación artificial y circulación constante de agua. Se los alimentó a diario con alimento para peces TetraMin®. La temperatura, el pH y la conductividad fueron controlados periódicamente.

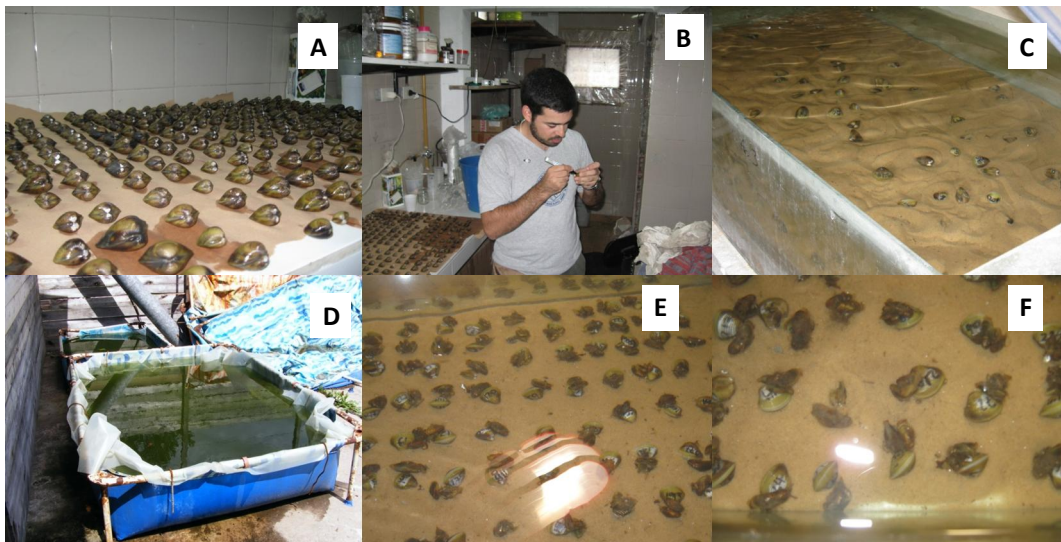


Figura 4.4 Detalles de los ensayos con *C. fluminea*. A. Ejemplares colectados para realizar el primer ensayo. B. Marcado de los ejemplares. C. Ejemplares de *C. fluminea* aclimatándose. D. Cultivo de algas *ad hoc*. E-F. Detalle de los ejemplares numerados y con *fouling* ocasionado por *L. fortunei*.

4.2.3 Descripción de los ensayos

Se realizaron dos ensayos para evaluar el impacto de dos proporciones de fouling de *L. fortunei* sobre *C. fluminea* (Tabla 5.2). Para esto se seleccionaron individuos de *C. fluminea* de entre 19 y 26 mm, de los cuales se midieron en alto de la conchilla (precisión 0,01 mm) y se pesaron (precisión 0,0001 g).

Todos los individuos de *C. fluminea* fueron previamente aclimatados entre 10 y 14 días. Luego de este período de aclimatación, las almejas fueron transferidos a un acuario de 200 L, en donde se adhirieron los individuos de *L. fortunei*. Éstos últimos representaron una proporción del peso húmedo de *C. fluminea* (Tabla 4.2) basados en los ensayos agudos hechos con *D. polymorpha* por Baker y Hornbarch (1997). Se colocaron entre 200 y 250 individuos en estas condiciones, considerando que se necesitaba un total de 160 individuos para la realización de cada ensayo (Figura 4.4 E, F). En cada ensayo se buscó aclimatar un número superior de individuos al necesario por la eventualidad de que el *fouling* fallara. Se colocaron los individuos de *L. fortunei* sobre los individuos de *C. fluminea* por un período de 72 h hasta lograr el fouling. Los individuos que al cabo de 72 h no estuvieron con *fouling* no fueron utilizados en los ensayos. En el Ensayo 1 el número de organismos con fouling no fue suficiente como para realizar un ensayo de 60 días de duración, por lo que se realizó a 45 días. En el Ensayo 2, el número de individuos de *C. fluminea* que contaron con *fouling* no fue suficiente por lo que una réplica contó con solo 30 individuos.

Los individuos con fouling (tratamientos) y sin fouling (control) fueron divididos al azar en los acuarios en donde se los dejó hasta finalizar cada ensayo (Tabla 4.2) (Figura 4.5). Cada quince días, se asignaban al azar 10 individuos a retirar de cada acuario. Los individuos retirados fueron transportados inmediatamente al laboratorio del GIMIP (FCNyM) para su procesamiento.

Tabla 4.2 Detalles de los ensayos realizados. Fouling expresado como porcentaje del peso húmedo de *L. fortunei*/ peso húmedo *C. fluminea*; duración expresada en días.

Ensayo	Fouling	Duración	Replicas	Control	Extracción	Individuos extraídos	Nro. de Corbiculas
1	20 ± 10 %	45	3	1	cada 15 días	10	120
2	50 ± 10 %	60	3	1	cada 15 días	10	150

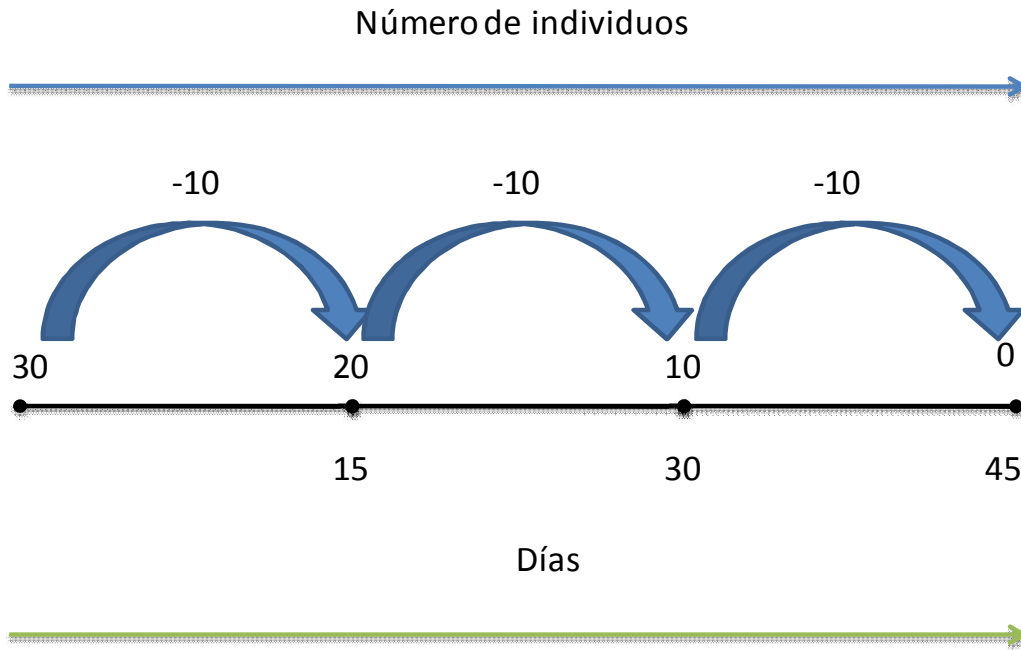


Figura 4.5 Diseño esquemático de los ensayos realizados. Cada quince días se retiraban al azar 10 individuos, identificados por número.

En el primer ensayo, el acuario número 1 tuvo una pérdida de agua, por lo que los individuos correspondientes a este acuario se colocaron en el acuario 2. El acuario 1 fue vaciado, limpiado, reparado, y vuelto a llenar con agua. Al cabo de 24 h los individuos fueron devueltos del acuario 2 al acuario 1.

En el segundo ensayo, el número de individuos de *C. fluminea* que mostraron ejemplares de *L. fortunei* adheridos, contaron con *fouling* no fue suficiente por lo que una réplica contó con solo 45 individuos. Los individuos a los que se les desprendían los mejillones durante el transcurso del ensayo no fueron considerados. Los individuos eran controlados a diario para evitar que los grupos de mejillones se adhiriesen entre sí o a un segundo individuo de *C. fluminea*.

La temperatura en los dos ensayos fue de $19 \pm 1,5$ °C, el pH fue de $8,5 \pm 0,12$ y la conductividad de $0,9 \pm 0,05$ mS/cm (media \pm desvío estándar; promedio de los cuatro acuarios).

Se utilizó un índice de condición (IC) para estimar el impacto por *biofouling*. Los índices de condición son utilizados normalmente como medida del estado fisiológico

de los bivalvos (Crosby & Gale 1990) y con *C. fluminea* se han utilizados distintas versiones de estos (Cataldo *et al.* 2001; Mouthon & Parghentanian 2004). Se calculó el IC usado por Cataldo *et al.* (2001), a fin de facilitar las comparaciones con los ensayos realizados en la región:

$$IC = MVS/LT$$

siendo IC = índice de condición, MVS = el peso de la masa visceral seca, LT = largo total del organismo. Para ello, los individuos eran medidos en el laboratorio del CIMA inmediatamente de retirados de los acuarios y luego se lo transportaba al laboratorio del GIMIP (FCNyM) en dónde se separaban las valvas de las partes blandas, las que fueron secadas en estufa (a 60°C, durante 48 h). Cada masa visceral fue pesada en una caja de aluminio previamente identificada y pesada.

Para cada ensayo se realizó un análisis de regresión lineal para cada tratamiento a lo largo del tiempo. En ambos ensayos se evaluó si la pendiente difería significativamente de cero (test t) y se comparó la pendiente del control (test t) con la pendiente del grupo tratado.

4.3 Resultados

Los IC obtenidos varían entre 4,59 y 5,07 para el ensayo 1 y entre 5,34 y 7,55 para el ensayo 2. El valor más alto de los IC correspondió al control a los 30 días del ensayo 2; el valor más abajo correspondió a los 30 días del ensayo 1 (Figura 4.6). No se observó mortalidad de individuos de *C. fluminea* al cabo de ninguno de los dos ensayos.

El análisis de los IC obtenidos no muestra diferencias entre una adhesión del $20 \pm 10\%$ (peso húmedo *Limnoperna* / peso húmedo *Corbicula*) con respecto al control, pero si se observa una tendencia negativa con un adhesión del $50 \pm 10\%$ (peso húmedo *Limnoperna* / peso húmedo *Corbicula*) con respecto al control (Figura 4.6). En el ensayo 1, la pendiente del tratamiento no difirió significativamente de cero ($p = 0,7774$) pero si en el ensayo 2 ($p = 0,0243$). En ambos ensayos la pendiente del tratamiento difirió significativamente de la del control (Ensayo 1, $p = 0,024$; Ensayo 2, $p = 0,0444$). El IC disminuyó en el ensayo 2 casi un 20% al cabo de 60 días con respecto al

control; la máxima disminución con respecto al control en el ensayo 1 fue de $\approx 5\%$, al cabo de 45 días.

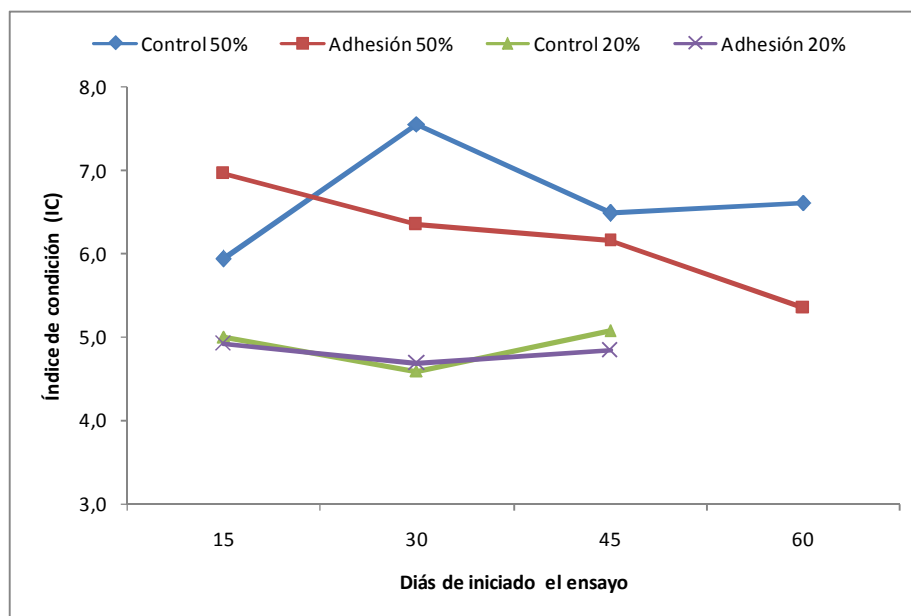


Figura 4.6 Índices de condición para cada ensayo y sus respectivos controles. Las rectas de la porción superior corresponden al ensayo 2; las rectas de la porción inferior corresponden al ensayo 1. Los resultados de cada ensayo son un promedio de los tres acuarios.

4.4 Discusión

Los índices de condición (IC) obtenidos en estos ensayos se encuentran dentro del rango obtenido por Cataldo et al. (2001) trabajando en un río poco contaminado (Río Paraná) por lo que se puede considerar a los organismos como saludables, comparándolos con los IC que mostraron los individuos en el Río San Antonio (IC ~ 3), afluente del río Lujan que recibe gran cantidad de efluentes cloacales e industriales (Cataldo *et al.* 2001). La disparidad de un punto en el valor del IC entre los ensayos realizados en este trabajo de tesis puede ser explicada por la diferencia temporal entre ambos. El ensayo 1 se realizó entre junio y agosto, inmediatamente después de la liberación de pediveligers ocurrida en marzo (Cataldo *et al.* 2001); el ensayo 2 se realizó entre octubre y diciembre, meses antes de otro evento de liberación de gametas, lo cual podría explicar la diferencia entre los IC. Estos valores son similares a

los obtenidos por Cataldo *et al.* (2001) para las mismas épocas del año. El hecho de no haberse observado mortalidad a lo largo de la duración de los ensayos señala que el protocolo de trabajo seguido en este estudio es adecuado.

Estos resultados son consistentes con lo observado en Norteamérica y Europa con la adhesión de *Dreissena polymorpha* y otros bivalvos infaunales (Baker & Hornbach 1997; Haag *et al.* 1993; Schloesser & Nalepa 1996; Schloesser *et al.* 1997; Sousa *et al.* 2011) en donde se han observado signos de inanición (Baker & Hornbach 1997), mortalidad y estrés fisiológicos (Haag *et al.* 1993; Schloesser & Nalepa 1994; Sousa *et al.* 2011), entre otros. En el estudio de este capítulo, se observaron signos de estrés aún en períodos acotados de tiempo (máximo 60 días) y se observó que los individuos con baja tasa de adhesión (20% peso húmedo *Limnoperna* / peso húmedo *Corbicula*) responden de manera estadísticamente diferente a aquellos sin adhesión. Sin embargo, ningún individuo de *C. fluminea* murió debido al *fouling*. Observaciones hechas en el laboratorio (obs. pers.) (n = 10) mostraron que individuos de *C. fluminea* pueden sobrevivir con altas tasas de adhesión por *L. fortunei* (130 % peso húmedo *Limnoperna* / peso húmedo *Corbicula*; tiempo de exposición = 228 días).

Los ensayos realizados en este capítulo, pioneros en la Región Neotropical, permiten inferir un impacto negativo por adhesión de *L. fortunei* sobre los bivalvos nativos, similares a los observados en Norteamérica y Europa con *D. polymorpha* y los unionidos nativos, debido a las similitudes ecológicas entre ambas especies invasoras y entre las especies de bivalvos nativos (Boltovskoy *et al.* 2006; Darrigran 2002; Darrigran & Damborenea 2011; Karatayev *et al.* 2007b, 2010; Ricciardi 1998). La adhesión no es el único mecanismo por el que los bivalvos invasores bisados pueden impactar a los bivalvos nativos infaunales se ha observado en el Hemisferio Norte, altas tasas de mortalidad en poblaciones de uniónidos con bajas tasas de *fouling* por *D. polymorpha* (< 30%) (Strayer & Smith 1996). Una de las hipótesis planteadas ha sido la competencia por el recurso alimentario (Baker & Levinton 2003; Caraco *et al.* 1997), dado que *D. polymorpha* es un filtrador más efectivo que los unionidos (Higgins & Vander Zanden 2010; Pace *et al.* 2010; Strayer 1999; Strayer & Smith 1996). Este enfoque ya ha sido tratado en la interacción por el recurso alimentario entre *D. polymorpha* y los uniónidos nativos en Norteamérica (Strayer 1999). La interacción entre *L. fortunei* y las náyades de América del Sur podría ser analizada en este

contexto, debido a las altas tasas de filtración del mejillón dorado de $\sim 30 \text{ ml mg}^{-1} \text{ h}^{-1}$, para individuos de 15 mm a 25°C (Sylvester *et al.* 2005). Asimismo, las densidades que pueden alcanzar sus poblaciones (*e.g.* un estimado de 45 billones en el Embalse Río Tercero, Córdoba) (Boltovoskoy *et al.* 2009a), podrían disminuir sustancialmente la cantidad de recursos presentes para otros organismos bentónicos (Boltovskoy *et al.* 2009a; Darrigran & Damborenea 2011).

No existen estudios específicos sobre el impacto del mejillón dorado sobre bivalvos infaunales, y los casos observados de adhesiones han sido basados en pocos individuos (Mansur *et al.* 2003; Karatayev *et al.* 2010). Usualmente, se hace referencia al posible impacto negativo sobre la base de lo observado con *D. polymorpha* y los uniönidos nativos en Norteamérica, dadas las altas tasas de *fouling* observadas (Bowers & de Szalay 2004; Haag *et al.* 1993; Ricciardi *et al.* 1996, 1998; Schloesser & Nalepa 1994; Schloesser *et al.* 1996; Strayer & Smith 1996). Sin embargo, se ha reportado que *D. polymorpha* y distintas especies de uniönidos coexisten en Europa y en Norteamérica, incluso en altas densidades (Boeckman & Bidwell 2008; Burlakova *et al.* 2000; Nichols & Amberg 1999; Nichols & Wilcox 1997; Sousa *et al.* 2011). Más aún, se ha observado en Norteamérica recuperaciones de las densidades poblacionales de uniönidos a los niveles previos a la invasión de *D. polymorpha* (Strayer & Malcom 2007). Basados en observaciones de drásticas disminuciones en las densidades de uniönidos (Schloesser & Nalepa 1994), sumado a observaciones hechas en laboratorio (Baker & Hornbarch 1997), se infirió a la adhesión de *D. polymorpha* como la causa. Los descensos observados en las densidades de uniönidos ocurrieron en la primera etapa de la invasión de *D. polymorpha* y su impacto puede cambiar a lo largo del proceso de invasión (Burlakova *et al.* 2000; Strayer & Malcom 2006, 2007; Strayer *et al.* 2011). Más aún, Sousa *et al.* (2011) mencionan que si bien la adhesión de *D. polymorpha* impacta a los uniönidos en Europa de igual forma que lo observado en Norteamérica (*i.e.* estrés fisiológico) y que la tasa de adhesión va en aumento, este impacto podría no ser tan severo como para la extinción de poblaciones locales (hecho aún no observado en el campo). Por esta razón, se debe ser cauto a la hora de extrapolar los resultados de estos ensayos al medio natural Burlakova *et al.* (2000) mencionan que aquellos bivalvos que pueden enterrarse completamente en el sustrato raramente se encuentran colonizados por *D. polymorpha*. Las observaciones

hechas en el laboratorio durante este trabajo de tesis, mostraron el mismo tipo de comportamiento (*i.e.* enterramiento) por parte de los ejemplares de *Anodontites* sp. y *Diplodon* sp. ($n = 3$). Además, se han observado (Maroñas, comm. pers.) en el campo individuos de los géneros *Anodontites* sp. y *Diplodon* sp. sin signos de *fouling* por parte de *L. fortunei*, en zonas pobladas por el mejillón dorado (Ensenada, La Plata). Si bien no sistemáticas, estas observaciones son complementarias con lo observado.

Capítulo V

Estudio de casos de invasiones de bivalvos
dulciacuícolas

Estudio de casos de invasiones de bivalvos dulciacuícolas

5.1 Introducción

El estudio de las invasiones biológicas a nivel mundial se inicia con el libro *Ecología de las invasiones de animales y plantas* (*Ecology of invasions by Animals and Plants*) de Charles Elton (1958) y desde entonces, el número de publicaciones en este tópico ha ido incrementándose (Ricciardi & Maclsaac 2008). Como especies invasoras, tanto el estudio de *Limnoperna fortunei* o “mejillón dorado” (Figura 5.1) como *Dreissena polymorpha* o “mejillón cebra” (Figura 5.2) han seguido el mismo patrón de incremento a lo largo de los años.

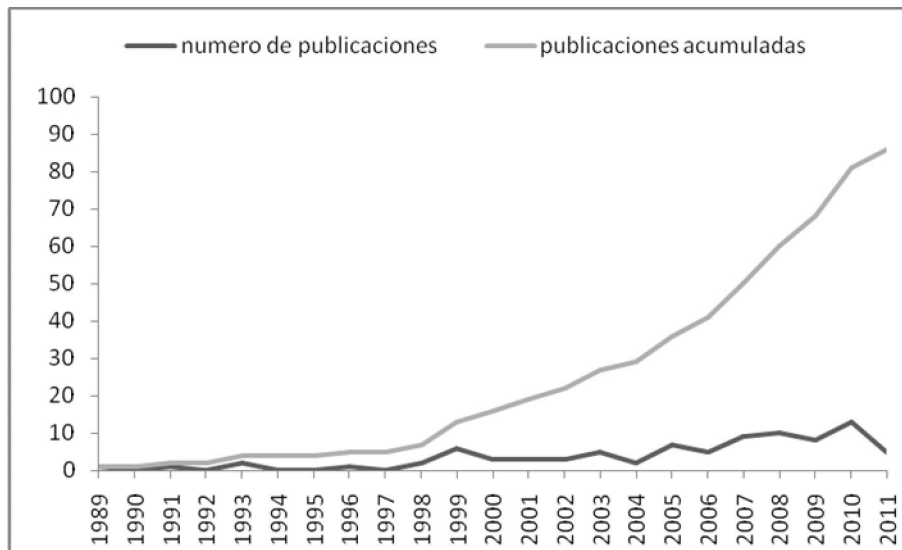


Figura 5.1 Número de publicaciones anuales halladas en ISI Web of Science® desde 1989 hasta el 21 de mayo de 2011, con el tópico de búsqueda *Limnoperna fortunei* o golden mussel.

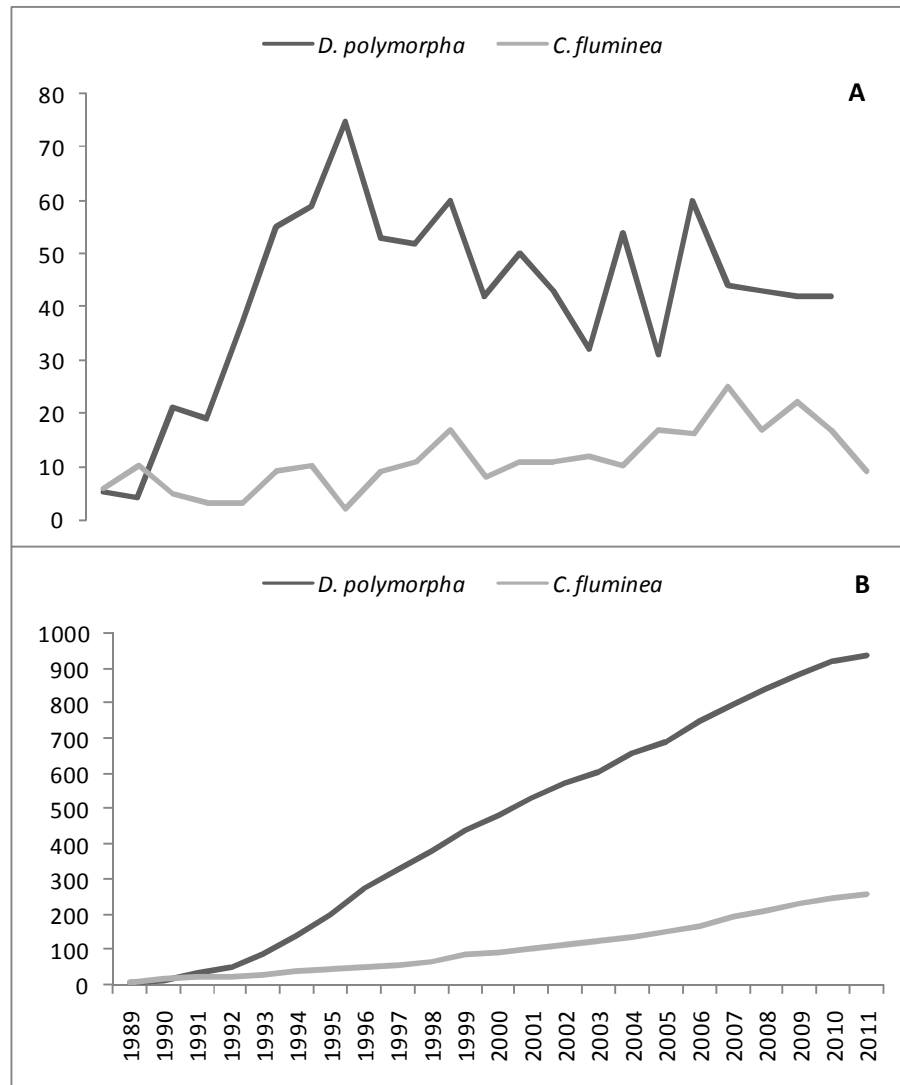


Figura 5.2 Número de publicaciones anuales halladas en ISI Web of Science® desde 1989 hasta el 24 -5-2011, con los tópicos de búsqueda *Dreissena polymorpha* o zebra mussel y *Corbicula fluminea* o asian clam. A = publicaciones anuales; B = publicaciones acumuladas.

Acerca de las invasiones biológicas, se ha mencionado que una vez establecidas se vuelven “un fenómeno para toda la vida” (Davis 2009), que afectan los procesos ecosistémicos (Strayer *et al.* 2006), cambian la estructura de las comunidades invadidas (Hedja *et al.* 2009) y alteran la diversidad genética de estas (Roman & Darling 2007). Más específicamente, se hace referencia a que, los invasores dulciacuícolas, una vez establecidos, son prácticamente imposibles de erradicar (Byers *et al.* 2002; Myers *et al.* 2000); los invasores más dañinos son aquellos que suman funciones nuevas al ecosistema invadido (Parker *et al.* 1999; Ricciardi & Atkinson 2004) y entre estos, los

bivalvos en su carácter de ingenieros de ecosistemas (Gutierrez *et al.* 2003; Strayer *et al.* 1999), especialmente aquellos bivalvos introducidos (Sousa *et al.* 2009) y en particular *L. fortunei* (Darrigran & Damborenea 2011). Las invasiones del mejillón cebra en Norteamérica y Europa (Higgins & Vander Zanden 2010; Ricciardi 2007; Strayer 2009, 2010) y el mejillón dorado en Sudamérica (Boltovskoy *et al.* 2006, 2009a; Darrigran 2002, 2010; Darrigran & Damborenea 2005, 2011; de Oliveira *et al.* 2006, 2010a) son solo dos ejemplos emblemáticos.

Dentro de este contexto, Esler *et al.* (2010) mencionan que la diferencia existente entre el número de publicaciones realizadas en temas aplicados de control y manejo con respecto a aquellas publicaciones realizadas en investigación básica es desproporcionada, con una mayor incidencia de los trabajos hechos en investigación básica. Esto ha sido observado en otras áreas de la biología de la conservación (Briggs 2006; Danielsen *et al.* 2003; Knight *et al.* 2008) y el fenómeno es particularmente manifiesto en el manejo de recursos acuáticos (Barmuta *et al.* 2011), en dónde los estudios en conservación y manejo son particularmente escasos (Abell 2002; Gherardi 2006). Asimismo, Abell (2002) en una revisión de trabajos realizados sobre conservación, muestra que sólo un 7% tienen relación con ambientes dulciacuícolas.

En este contexto, dadas las similitudes ecológicas (*e.g.* estilo de vida agregado, epifaunal, larvas plantónicas, ciclo de vida corto) entre *L. fortunei* y *D. polymorpha* se propone comparar a estas dos especies invasoras (EI) para determinar cuál presenta una mayor agresividad. Se examinan los artículos científicos publicados desde 1989 (año en el que comenzó la invasión del mejillón cebra en Norteamérica) para evaluar en qué áreas temáticas se han hecho la mayoría de las investigaciones con tres EI dulciacuícolas: *C. fluminea*, *D. polymorpha* y *L. fortunei*. Si bien existen datos anteriores al año 1989, se utilizó éste año con fines comparativos por ser el año en el que la invasión de *D. polymorpha* en Norteamérica tomó relevancia (Herbert *et al.* 1989; Strayer 2009).

5.2 Desarrollo

5.2.1 Comparación entre los procesos de invasión de *L. fortunei* y *D. polymorpha*

Se han comparado en la literatura estas dos especies, con respecto a sus características de vida (Karatayev *et al.* 2007b) y efectos sobre otras especies bentónicas (Karatayev *et al.* 2010). *D. polymorpha* se halla ampliamente distribuida en el este de los Estados Unidos (Strayer 2009) y se encuentra establecida en Inglaterra, Irlanda, España, Italia y Bielorusia, entre otros (Aldridge 2004, Binimellis *et al.* 2007, Burlakova *et al.* 2006; Pollux *et al.* 2003, Quaglia *et al.* 2008). Por su parte, *L. fortunei* se estableció en Hong Kong, Japón (Magara *et al.* 2001) y a lo largo de aproximadamente 3.000 km en Sudamérica, colonizando la Cuenca del Plata, además de la Cuenca de Guaíba (Brasil), sin existir conexión directa entre ambas.

Hay dos factores de particular importancia con respecto a estas dos EI y sus respectivos procesos de invasión. El primero de ellos es el relacionado a los factores ambientales que restringen la dispersión de las EI (Catford *et al.* 2009; Davis *et al.* 2000). Estos han sido revisados en Darrigran *et al.* (2011) y en de Oliveira *et al.* (2011) para *L. fortunei* y en Karatayev *et al.* (2007b) para *D. polymorpha*. *L. fortunei* es más tolerante a la escasez de oxígeno y la poca disponibilidad de calcio que *D. polymorpha*, factores que se asumen como determinantes en el asentamiento de nuevas poblaciones de *D. polymorpha* (Bodamer & Bossenbroek 2008; Jones & Ricciardi 2005; Whittier *et al.* 2008), como así también tiene una mayor resistencia a la contaminación ambiental (Boltoskoy *et al.* 2006; Karatayev *et al.* 2009). A las predicciones acerca de su dispersión hacia el norte por parte de *L. fortunei* (Darrigran 2002; Ricciardi 1998) se suman dos modelos de dispersión que predicen un continuo avance de la especie en Sudamérica e incluso la factibilidad de que alcance Norteamérica en áreas inadecuadas para *D. polymorpha* (de Oliveira *et al.* 2010a, c). Sobre la base de su tolerancia a los factores ambientales, *L. fortunei* sería una EI más agresiva que *D. polymorpha*.

El segundo de los factores a considerar, es el rol del ser humano en la dispersión de estas especies. Algunos autores aseguran que el fenómeno de las EI es

más humano que ecológico (McNeely 2006). Existen casos de estudio en los que de entre múltiples variables (ecológicas, ambientales, biológicas) la que determina el éxito (*i.e.* dispersión, establecimiento) de las EI es una variable socioeconómica (*e.g.* Lin *et al.* 2007; Pyšek *et al.* 2010; Pyšek & Hulme 2011; Simberloff *et al.* 2009b). Estos dos bivalvos invasores, nunca hubiesen alcanzado su actual distribución sin asistencia directa del hombre. Ambas especies combinan procesos naturales de dispersión con aquella dispersión a saltos mediados por el hombre (Boltovskoy *et al.* 2006) y para ambas especies es fundamental el rol que las pequeñas embarcaciones juegan en la dispersión aguas arriba o entre cuerpos de agua no interconectadas (Belz *et al.* en prensa; Bossenbroek *et al.* 2007).

El escaso conocimiento que las autoridades parecen tener acerca de la problemática de las EI (Ricciardi *et al.* 2011) y de la escasa regulación al respecto de las mismas en países en desarrollo (Nuñez & Pauchard 2010) favorecerían la dispersión del mejillón dorado.

5.2.2 La invasión del mejillón dorado en el marco de la biología de las invasiones

Para determinar cuáles fueron los campos en los que se priorizó el estudio del mejillón dorado se consideraron 90 publicaciones científicas en el periodo 1989-2011 (ISI Web of Science®, visto el 21-5-2011 con el tópico de búsqueda *Limnoperna fortunei* OR golden mussel) y se las clasificó según la temática de estudio (Tabla 5.1; Figura 5.3). Lo mismo se observa para otras dos especies de bivalvos invasores, ambos extensivamente estudiados y considerados como invasores de alto impacto (*sensu* Ricciardi & Maclsaac 2011): *D. polymorpha* y *C. fluminea* (Figura 5.4).

Tabla 5.1 Clasificación para categorizar los estudios sobre bivalvos invasores. 1 Nagaya *et al.* 2001; 2 Baker & Leveinton 2003; 3 Darrigran *et al.* 1998; 4 de Oliveira *et al.* 2006; 5 Pereyra *et al.* 2011; 6 Costa *et al.* 2008; 7 Wimbush *et al.* 2009; 8 Hallac & Mardsen 2001; 9 Darrigran 2002; 10 Strayer 2009; 11 de Oliveira *et al.* 2010a.

Tópico	Descripción	Ejemplos
Experimental	Trabajos realizados en laboratorio o a campo en condiciones controladas o semicontroladas	1, 2
Observacional	Observación de algún fenómeno en las poblaciones naturales o de algún proceso (<i>e.g.</i> desarrollo embrionario) en laboratorio	3, 4
Aplicado	Trabajos realizados en laboratorio o en campo, con algún objetivo específico (<i>e.g.</i> toxicidad de algún producto, evaluación de calidad de aguas).	5, 6
Control y manejo	Trabajos realizados con el fin de: controlar alguna/s población/nes de una EI; impedir su establecimiento en algún área de interés para la conservación; evaluar herramientas de conservación con EI; evaluar las especies afectadas por bioinvasiones.	7, 8
Revisión	Revisión crítica sobre algún tópico de la EI (<i>e.g.</i> distribución y abundancia) o desarrollo de modelos teóricos o matemáticos	9 - 10

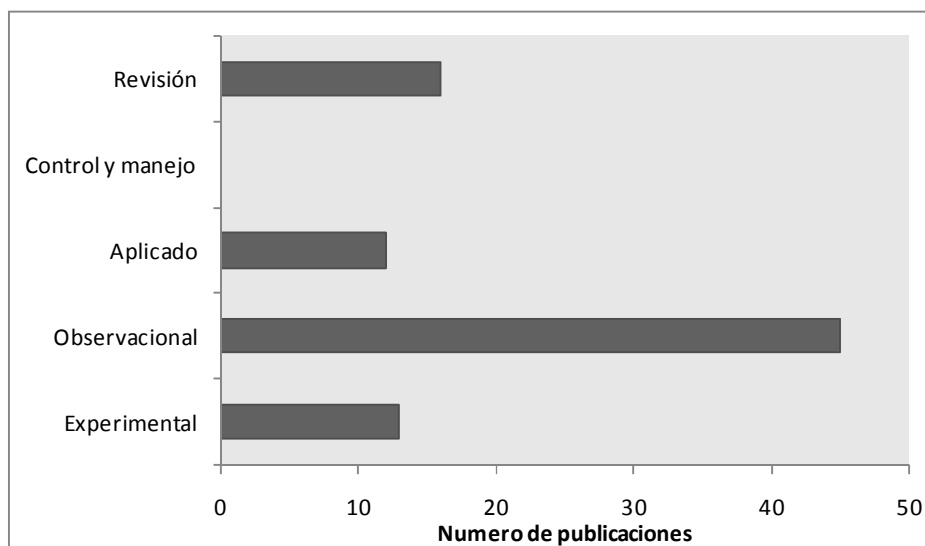


Figura 5.3 Número de publicaciones anuales halladas en ISI Web of Science® desde 1989 hasta el 21 de mayo de 2011 con la búsqueda de *Limnoperna fortunei* o golden mussel. Ver tabla 5.1 para más detalles sobre los tópicos.

El análisis de la literatura publicada desde 1989 hasta la actualidad con *L. fortunei*, *D. polymorpha* y *C. fluminea* muestra que el tópico más relevante para las tres especies ha sido el Observacional (tanto en el laboratorio como en el campo). En el caso de *L. fortunei* siguen en importancia los tópicos Revisión, Experimental y Aplicado (Figura 5.3); en el caso de *C. fluminea* y *D. polymorpha* siguen en número de publicaciones los tópicos Experimental, Revisión y Aplicado (Figura 5.4). El tópico con menor número de publicaciones ha sido el de Control y Manejo (Figuras 5.3 y 5.4).

En relación con los países miembros del MERCOSUR en general y de Argentina en particular, con todos los cambios ecosistémicos que el mejillón dorado provoca (Darrigran & Damborenea, 2011) no deja de ser notoria la falta de programas de control. Como se mencionó, este hecho es un fenómeno mundial, que afecta a todo el estudio de las EI (Esler *et al.* 2010; Hulme 2003; Simberloff 2003, 2009a) en dónde las limitaciones a la hora de implementar programas de control son muchas, máxime en países en vías de desarrollo (Nuñez & Pauchard 2010). Sin embargo, esto no resultó obstáculo para el desarrollo exitoso de programas de control en países en vías de desarrollo (*e.g.* erradicación del vector de la malaria *Anopheles gambiae* en Brasil) (Simberloff 2003) y en aquellos denominados desarrollados (*e.g.* erradicación de

poblaciones de mejillones y algas introducidas) (Anderson 2005; Bax *et al.* 2002; Hopkins *et al.* 2011; Wimbush *et al.* 2009), aún en casos de especies ampliamente distribuidas. Así, la investigación sobre EI no debería ser guiada para resolver preguntas teóricas sobre el fenómeno de la invasión de una especie en particular, si no que tendría que estar orientada a buscar soluciones (*e.g.* técnicas de control) al problema de bioinvasiones en general (Buckley 2008; Simberloff 2003). Como se desarrolló en la introducción, se parte de la base de que las EI *son un problema de conservación*. Aquellos que se muestran escépticos sobre la problemática representada por las EI han sugerido que es difícil probar que éstas conlleven a la extinción de especies nativas (Davis 2003; Gurevitch & Padilla 2004), que la diversidad específica aumenta en lugar de disminuir (Rosenzweig 2001; Sax & Gaines 2003; Sax *et al.* 2002), que el fenómeno podría estar sobredimensionado (Davis *et al.* 2011; Sagoff 2005; Warren 2007) o incluso orientado hacia aquellas EI más conspicuas y más fácilmente analizables (Davis 2009; Pyšek *et al.* 2006, 2008). Existen contrapartes para estos argumentos (*e.g.* Pyšek & Richardson 2010; Ricciardi 2004; Richardson *et al.* 2008; Sax & Gaines 2008; Simberloff 2005, 2011b; Williams & Grosholz 2008) y no serán discutidos en detalle aquí. Sí destacaremos dos puntos importantes a tener en cuenta sobre las invasiones biológicas:

1) Si bien es difícil probar que las EI conlleven a la extinción de las especies con excepción de depredadores vertebrados en islas oceánicas, (Sax & Gaines 2008), no es necesario que todas las EI conlleven a la extinción de especies para entender el fenómeno como un problema (Ricciardi *et al.* 2011). Aunque las EI no causen extinciones inmediatas, pueden propiciar procesos secundarios o sinérgicos que eventualmente causen la extinción de las especies (Brook *et al.* 2008; Maron *et al.* 2006; Purvis *et al.* 2000), o pueden llevar a las distintas poblaciones hasta niveles en dónde no se alcance el mínimo viable poblacional (Downing *et al.* 2010). Por ejemplo, McGeoch *et al.* (2010) mencionan que en Europa la mayoría de las EI producen reducción en la biodiversidad y cambios en la estructura de los ecosistemas, pero muy pocas amenazan directamente a especies en peligro. Referente al caso mejillón dorado, Martin y Darrigran (1994) detallan el desplazamientos de gasterópodos con el asentamiento de *L. fortunei*, mientras que Darrigran *et al.* (1998), plantean la reestructuración de la composición del bentos en el mismo lugar.

2) Que no todas las EI producen la extinción de especies, no debería ser el criterio determinante en el que fundar (o aplazar) la toma de decisiones sobre el control de las EI. El hecho de provocar alteraciones en un ecosistema, si lo es. Como se mencionó, los cambios ecosistémicos que ciertas EI pueden provocar son importantes, aún cuando no está probado que conlleven a la extinción de especies, como el mejillón cebra en Norteamérica (Higgins & Vander Zanden 2010), el mejillón dorado en Sudamérica (Boltovskoy *et al.* 2009a; Darrigran & Damborenea 2011), o tantas otras EI en todo el mundo (Bergstrom *et al.* 2009; Croll *et al.* 2005; Maron *et al.* 2006; Melbourne *et al.* 2007; O'Dowd *et al.* 2003; Sanders *et al.* 2003; Strayer 2009; Strayer *et al.* 2008; Vilà *et al.* 2010; Witte *et al.* 1992). El que las EI no hayan producido *aún* un impacto observable por el hombre en el ecosistema, no significa que no lo estén produciendo o que no lo vayan a producir, e incluso que la falta de evidencia positiva de impacto no significa *per se* evidencia de ausencia de impacto (Simberloff 2011a).

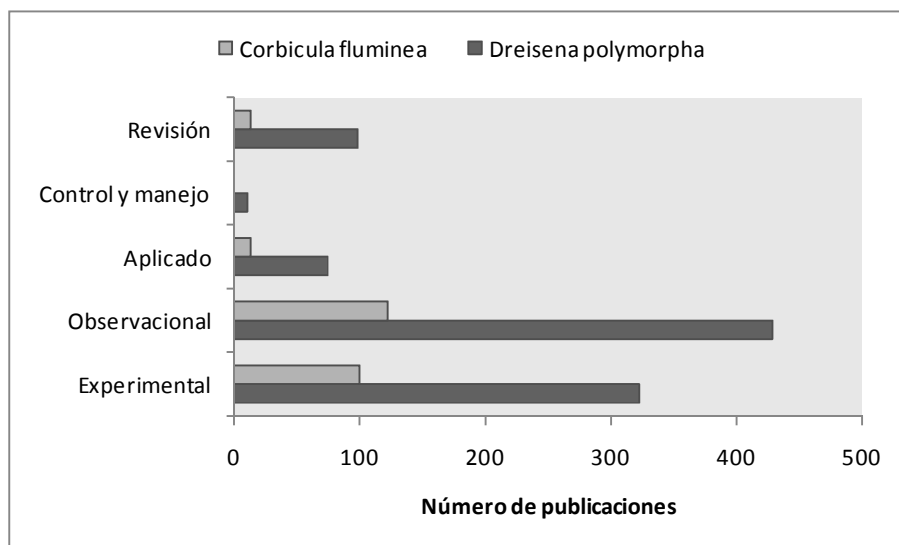


Figura 5.4 Número de publicaciones anuales halladas en ISI Web of Science® desde el año 1989 hasta el 21-5-2011, con el tópic de búsqueda *Dreissena polymorpha* OR zebra mussel. Ver tabla 5.1 para más detalles de las referencias.

En la Argentina, nada parece indicar que al problema de las EI en general se le otorgue la relevancia que posee. Y en particular no existe ningún tipo de programa para mitigar o disminuir la dispersión del mejillón dorado, como los planteados en

Brasil (da Costa Fernandes & Neto 2006) y, con el mejillón cebra, en algunas regiones de Estados Unidos (Mueiting & Gerstenberger 2011) o en España (Durán Lalaguna & Anadón Marco 2008; Durán *et al.* 2010). Más aún, la resolución 376/97 de la Secretaría de Recursos Naturales y Desarrollo Sustentable (<http://www.ambiente.gov.ar/>, visto el 29-7-11) se observa no sólo una tendencia a la derivación del problema hacia terceros sino la falta de una política para enfrentar el problema.

Sobre la base de lo expuesto se concluye que: es necesario mayor difusión y educación sobre la problemática de las EI en general y del mejillón dorado en particular (Darrigran *et al.* 2008) y mayor énfasis en la investigación directamente relacionada con el control y el manejo en el ambiente natural, cuáles son los principales vectores de distribución, cuáles son sus límites de tolerancia ambiental, que factores abióticos (*e.g.* contaminación del agua) o bióticos (*e.g.* depredación) podrían ayudar a limitar su dispersión, técnicas de control (*e.g.* remoción manual), entre otros.

Capítulo VI

Discusión general y Conclusiones

6.1 Discusión general

6.1.1 El rol de las plantas generadoras de energía en la biología de las invasiones

En este trabajo de tesis se han estudiado aspectos poblacionales de *L. fortunei* en la Central Hidroeléctrica Yacyretá (CHY) entre los años 1999 y 2001. Las densidades de larvas de esta especie invasora registradas en la CHY en 2010/2011 son mayores que las correspondientes al período considerado en este Trabajo de Tesis, por lo tanto se podría afirmar que esta invasión todavía se encuentra en una etapa de crecimiento exponencial o de “pánico” (G. Darrigran, Informe Diagnóstico de Situación de la población del Mejillón Dorado dentro de la CHY y Embalse, 2010-2011; inédito). Asimismo, las densidades de juveniles/adultos en los vanos de la misma Central encontrados en los años 2010/2011, no presenta diferencias significativas con las del período de esta tesis (G. Darrigran, *op. cit.*).

Se determinaron diferencias en la densidad y en la biomasa de los individuos asentados en los distintos sectores de la CHY; asimismo, los valores de densidad máxima registrados (67.000 individuos / m^2) fueron menores que los registrados previamente en otras instalaciones humanas invadidas (Boltovskoy & Cataldo 1999), todo lo cual pone de manifiesto la gran variabilidad que las poblaciones del mejillón dorado posee en los distintos sitios donde invade. Factores ambientales como la salinidad y el tipo de sustrato así como factores ligados a cada fenómeno de invasión (*e.g.* tiempo desde que ocurrió el asentamiento, asociación con factores antropogénicos) deben ser tenidos en cuenta a la hora de estudiar las poblaciones del mejillón dorado (Darrigran *et al.* 2011).

Asimismo, se ajustaron modelos de crecimiento individual teórico de von Bertalanffy a las distribuciones de frecuencia de tallas obtenidas en la CHY. Los valores de las constantes de crecimiento (k) determinados en la CHY fueron mayores que los obtenidos en un área de clima templado (Maroñas *et al.* 2003) y menores que los hallados en un área de clima subtropical (Belz *et al.* 2010). Estas variaciones estarían relacionadas con el efecto regulador de la temperatura en el crecimiento de los

Discusión general y Conclusiones

bivalvos en general (Galbraith & Vaughn 2009) y del mejillón dorado en particular (Darrigran *et al.* 1999).

Los embalses en general, generan un entorno diferente, estable y con un elevado grado de disturbio ambiental y actividad humana, lo que facilita y promueve el establecimiento y dispersión de EI. Esto se ha descrito en los Estados Unidos para distintos organismos (crustáceos, peces, algas, moluscos) (Havel & Medley 2006; Havel *et al.* 2005; Johnson *et al.* 2008) y para peces tanto en Brasil (Espínola *et al.* 2010) como en España (Clavero & Hermoso 2011). En la Argentina los estudios se han concentrado en las características de una especie dentro del ambiente humano invadido (Boltovskoy *et al.* 2009a; Darrigran *et al.* 2007a). Tampoco existen estudios que determinen cómo afectan los embalses a los moluscos invasores en general. En el embalse de la CHY no solo está presente el mejillón dorado (ver Capítulo 3) sino también el caracol invasor *Melanooides tuberculata* (Müller, 1774) (Rumi *et al.* 2006) y la almeja asiática *C. fluminea* (Meichtry de Zaburlín *et al.* 2010). La hipótesis de que dos (o más) EI tengan efectos facilitadores en el establecimiento de una nueva EI en una región dada fue formulada por Simberloff & von Holle (1999). Un fenómeno de estas características podría ocurrir en la CHY.

En cuanto al rol de la CHY en la invasión del mejillón dorado, cabe considerar la posibilidad de que la CHY funcione como un peldaño (*stepping stone*) (Apte *et al.* 2000), una instancia que le permita a la especie establecer una población estable que funcione como fuente de propágulos para seguir dispersándose aguas arriba; del mismo modo, la población en la CHY permite una continua dispersión de larvas aguas abajo, siguiendo el modelo propuesto por Boltovskoy *et al.* (2006) para *L. fortunei*. Esto es importante porque el enfoque de manejo debería estar en controlar la dispersión de las larvas, máxime cuando estas son uno de los principales mecanismos de dispersión de la especie (Belz *et al.* en prensa). En cuanto al manejo del mejillón dorado en instalaciones humanas, Boltovskoy *et al.* (2009a) propusieron como mejor opción el control de los individuos juveniles, y si bien esto no debería descartarse, la situación requiere estudios más detallados y particulares a cada caso. Intentar controlar las larvas (Capítulo 4) o los juveniles (Boltovskoy *et al.* 2009a) podría ser una buena estrategia para los organismos dentro de la CHY, pero dada las limitaciones en el uso de técnicas químicas en grandes extensiones de agua, o del escaso conocimiento

Discusión general y Conclusiones

que se tiene del comportamiento del mejillón dorado en períodos de tiempo extensos (*i.e* 5 – 10 años) en cuanto a su dinámica poblacional y ciclos reproductivos, encontrar una metodología única que funcione para controlar la invasión parece una utopía.

6.1.2 El uso de biocidas en el control de especies invasoras

En este estudio se ha podido evaluar la efectividad de distintos productos de origen vegetal como biocidas contra el mejillón dorado. Tanto los productos derivados de los taninos del quebracho colorado (ECOTEC®-UA, ECOTEC®-L y ECOTEC®-MC) como la solución derivada del aceite de Nim mostraron ser efectivos contra larvas del mejillón dorado en exposiciones de 24 h. Las Concentraciones letales 50 (CL₅₀) obtenidas para estadios larvales del mejillón dorado con los productos ECOTEC® no mostraron superposición con las CL₅₀ obtenidas para especies no blanco; la CL₅₀ obtenida con la solución de aceite de Nim mostró superposición con las especies no blanco *Daphnia magna* y *Cnesterodon decemmaculatus*. Sobre la base de estos resultados se recomienda la utilización de estos productos solo en sistemas cerrados en instalaciones humanas.

Se obtuvieron CL₅₀ para los individuos adultos del mejillón dorado con exposiciones de 168 h (productos ECOTEC®) y 72 h (solución de Nim). Estos tiempos son menores que los necesarios para lograr mortalidad con hipoclorito de sodio, tanto para *L. fortunei* (Cataldo *et al.* 2003; Morton *et al.* 1976) como para otras especies de bivalvos adherentes: *D. polymorpha* (van Benschoten *et al.* 1995), *Mytilus edulis* (Lewis 1985) y *Perna perna* (Rajagopal 1997). Sobre la base de estos resultados, se reafirman los estudios derivados del aceite de Nim, con el fin de hallar un biocida orgánico que sea a la vez ambientalmente amigable y económicamente rentable (Qian *et al.* 2010).

En este trabajo de tesis, no se han llevado a cabo, por no estar considerados entre los objetivos, estudios en el campo para contrastar los resultados de estos u otros productos como métodos de control. No obstante, a continuación se señalan algunas razones para realizar estos estudios de campo:

1. No existen programas nacionales o regionales para evitar la dispersión del mejillón dorado a pesar de que las advertencias sobre la misma son

Discusión general y Conclusiones

varias (Darrigran 2002; de Oliveira *et al.* 2010a; Ricciardi 1998). El único intento para evitar la dispersión de *L. fortunei* ha sido realizada localmente y con la utilización de cloro (Rolla & Mota 2010). Los efectos de este tratamiento sobre la biota de los sitios en donde se llevó a cabo no han sido declarados (Rolla & Mota 2010), por lo tanto este tratamiento no sería aconsejable.

2. El uso de biocidas como mecanismo de control en aguas continentales presenta serios problemas: dilución de la dosis, adaptación de la especie objetivo a las sustancias tóxicas, opinión pública en contra (Myers *et al.* 2000; Thresher & Kuris 2004). No obstante, su utilización debería evaluarse con mayor detalle. Por ejemplo, se utiliza Rotenona contra invasiones de peces dulciacuícolas, un tóxico que es muy efectivo pero poco selectivo (Britton *et al.* 2008; Hein *et al.* 2007), como también químicos lampricidas en los grandes lagos de Norteamérica para controlar la invasión de la lamprea marina (*Petromyzon marinus*) (Linnaeus, 1758), con un 90% de reducción poblacional de la lamprea (Lupi *et al.* 2003; Vander Zanden *et al.* 2010). Las erradicaciones de dos especies introducidas, el mejillón estriado, *Mytilopsis sallei* (Recluz, 1849), en Darwin, Australia, y el alga asesina, *Caulerpa taxifolia* (Vahl, 1817), en Florida, USA, se llevaron a cabo utilizando cloro y sus derivados (Anderson 2005; Bax *et al.* 2002), los cuales son altamente tóxicos (Mackie & Claudi 2010). Más aún, los intentos por controlar tanto al mejillón dorado (Rolla & Mota 2010), como al mejillón cebra (Strayer 2009) en aguas abiertas mediante el uso de biocidas, han sido realizados con la utilización de cloro. En estos casos, la problemática de usar tóxicos fue considerada de menor impacto que la alternativa: perder la oportunidad de controlar una población de una especie introducida. Sin embargo, es necesario mencionar que debe analizarse cuidadosamente en cada caso de introducción antes de recomendar cualquier medida de manejo.

Discusión general y Conclusiones

Cabe señalar que para el control del mejillón dorado en instalaciones humanas, no existe una única técnica generalizada, por el contrario, se requiere de una combinación de tratamientos (Darrigran 2010; Darrigran & Damborenea 2006c; Darrigran & Pereyra en prensa). Con estos se considera a cada toma de agua a tratar en particular, separándolas por secciones, dada la complejidad y funcionalidad de las mismas, para poder decidir la secuencia de técnicas de control a utilizar. La aplicación de un biocida es una opción más a aplicar dentro del sistema, existiendo otras alternativas (*e.g.* remoción mecánica, anoxia, tratamiento con calor) (Darrigran 2010; Perepelizin & Boltovskoy 2011a, b). En vista de esto, es necesario pasar a una nueva etapa en los ensayos con productos biocidas. Hasta ahora, o se realizaron ensayos en medios estáticos (Cataldo *et al.* 2003; Darrigran & Damborenea 2001; Pereyra *et al.* 2011; este estudio) o se aplican medidas de control a puertas cerradas (Mackie & Claudi 2010). Se necesita una mayor integración entre las partes involucradas: personal científico capacitado trabajando en las instalaciones de forma organizada, periódica y constante que permita evaluar la efectividad de lo estudiado en el laboratorio, para que la información así obtenida no se convierta en un mero ejercicio académico (Shanley & López 2009).

Finalmente, como se mencionó para el caso de las instalaciones humanas invadidas, el uso de biocidas es un mecanismo posible a utilizar en estas. El mismo debería ser evaluado en cada caso en particular y combinado con otras técnicas (*e.g.* la remoción mecánica) (Wimbush *et al.* 2009) dentro de un programa regional de monitoreo y control del mejillón dorado. Ese programa no existe aún, pero las razones para esto quizá deban buscarse por fuera de la biología (*i.e.* sociales, económicas o políticas) (Darrigran 2008).

6.1.3 Interacción entre dos bivalvos invasores: *Limnoperna fortunei* y *Corbicula fluminea*

Los resultados alcanzados en este trabajo demuestran que *L. fortunei* produce un estrés por *fouling* en *C. fluminea*, con una adhesión del 50 % (Peso húmedo *Limnoperna* / Peso húmedo *Corbicula*). Este estudio ha sido el primero realizado en

Discusión general y Conclusiones

este aspecto. Debe considerarse que estos resultados difícilmente sean extrapolables a otras especies del ecosistema (Darrigran *et al.* 2011). Sin embargo, hay que considerar lo observado en los ensayos realizados en este trabajo de tesis doctoral y por lo observado en Norteamérica en relación al impacto de *D. polymorpha* sobre los unionidos nativos (Baker & Hornbach 1997, 2000; Ricciardi 2004; Ricciardi *et al.* 1996; Schloesser & Nalepa 1994) es posible que *L. fortunei* impacte a los bivalvos infaunales nativos de manera similar a como lo hace con *C. fluminea* (Karatayev *et al.* 2010).

Cabe considerar al menos una observación acerca de la dinámica poblacional de estas dos EI: la posibilidad de un efecto positivo de una de estas especies sobre la otra, o de ambas entre sí. Se han reportado casos de *fouling* de *L. fortunei* sobre *C. fluminea* (Darrigran 2002; Karatayev *et al.* 2007a; Mansur *et al.* 2003). Mansur *et al.* (2003) incluso hacen referencia al elevado número de individuos de *L. fortunei* adheridos sobre individuos de *C. fluminea* (Mansur *et al.* 2003). Sin embargo, no se hace referencia al número de especímenes de *C. fluminea* con mejillones en relación al número de *C. fluminea* presentes. Karatayev *et al.* (2007a) mencionan porcentajes muy bajos de *fouling* de *L. fortunei* sobre *C. fluminea* (1-2%). De forma semejante, no se han reportado gran número de ejemplares de *D. polymorpha* adheridos a *C. fluminea*, a pesar de que coexisten en gran parte de su distribución en Europa y Norteamérica (Bachmann *et al.* 1997; Karatayev *et al.* 2005, 2007a). Así, podría existir un efecto facilitador por parte de *C. fluminea* sobre *L. fortunei* (o a la inversa) o bien, un fenómeno de *invasional meltdown* (Simberloff & Von Holle 1999), el cual implica un efecto sinérgico entre dos (o más) EI (Simberloff 2006). Se ha documentado este fenómeno en algunas invasiones a nivel mundial (Grosholz 2005; O'Dowd *et al.* 2003; Relva *et al.* 2009; Ricciardi 2001; Simberloff 2006) y en particular se cree que es más frecuente en ecosistemas acuáticos que terrestres (Gherardi 2007; Ricciardi 2005). Tanto *L. fortunei* (Darrigran & Damborenea 2011) como *C. fluminea* (Sousa *et al.* 2008a, 2009) son considerados ingenieros de ecosistemas y como tales, afectan la disponibilidad de los recursos y la estructura física de los cuerpos de agua invadidos, pudiendo generar ambientes más susceptibles a ser invadidos, de otra forma inaccesibles para las EI. Se ha observado que tanto *L. fortunei* como *C. fluminea* favorecen el asentamiento de distintos invertebrados, tanto nativos como exóticos (Darrigran *et al.* 1998; Karatayev *et al.* 2010; Sardiña *et al.* 2008; Sylvester *et al.* 2007a;

Discusión general y Conclusiones

Werner & Rothhaupt 2008). Callil (2008) ha sugerido que la presencia de *L. fortunei* en Brasil se ve favorecida por la ocurrencia previa de *C. fluminea*. Belz *et al.* (en prensa) demostraron que tanto para *L. fortunei* como para *C. fluminea* la dispersión antropogénica es más importante que la natural. Así, *C. fluminea* y *L. fortunei* coexisten en la cuenca del plata, y siendo que se asume que *L. fortunei* llegó a Japón como contaminante biológico de ejemplares de *C. fluminea* introducidos para consumo (Magara *et al.* 2001), se puede hipotetizar que lo mismo podría ocurrir en Sudamérica. Así, un fenómeno de *invasional meltdown* puede ocurrir. Se necesitan estudios en campo para contrastar esta hipótesis (*i.e.* efectos sinérgicos de una EI sobre otra EI), teniendo en cuenta además que las relaciones positivas (*i.e.* facilitación, mutualismo) en los ecosistemas acuáticos son más comunes de lo que normalmente se asume (Hay *et al.* 2004).

Hay que considerar que tanto *L. fortunei* como *D. polymorpha* muestran gran solapamiento en sus áreas de distribución con *C. fluminea* (Darrigran 2002; Mansur *et al.* 2003; Sousa *et al.* 2008a; Karatayev *et al.* 2005, 2007a) y sin embargo no se han reportado el efecto que estas especies puedan tener unas en otras. Tampoco se han reportado infestaciones masivas de *D. polymorpha* sobre *C. fluminea*, como si se lo ha hecho con especies nativas de bivalvos (Ricciardi *et al.* 1996, 1998; Schloesser & Nalepa 1994). Karatayev *et al.* (2007a) han propuesto la posible coexistencia de estas tres especies en un lago hipotético en dónde *C. fluminea* ocuparía las áreas de sedimentos blandos y con buena oxigenación, *L. fortunei* ocuparía las zonas con alta contaminación orgánica e hipoxia periódica y *D. polymorpha* dominaría la zona litoral, adherido a las macrófitas. Debido a que la dispersión de *L. fortunei* continua en aumento en Sudamérica (de Oliveira *et al.* 2010a), se ha señalado que podría alcanzar Norteamérica (Darrigran 2002; de Oliveira *et al.* 2010a; Ricciardi 1998) y Europa (Darrigran, 2002). Por lo tanto, la predicción hecha por Karatayev *et al.* (2007a) parece posible.

La hipótesis de *invasional meltdown* debería tenerse en cuenta, ya que en el caso de que estos bivalvos introducidos tengan efectos facilitadores o sinérgicos entre sí podrían acelerar la degradación de los ecosistemas invadidos (Simberloff & Von Holle 1999) o acelerar la dispersión de estas especies en Sudamérica. *Corbicula fluminea* es una EI bien establecida en Europa (Sousa *et al.* 2008a) y bien podría

Discusión general y Conclusiones

facilitar la llegada de otros invasores, como el mejillón dorado, a los ecosistemas invadidos por esta (Callil 2008).

6.2 Conclusiones

En este trabajo de tesis se estudiaron varios aspectos de la invasión de *Limnoperna fortunei* en la Argentina, tanto en ambientes humanos invadidos como en el *fouling* sobre bivalvos en cuerpos de agua naturales o semi-naturales. Sobre la base de lo realizado en este trabajo de tesis, se puede concluir que:

- El crecimiento de la población e individual del mejillón dorado en un ambiente humano invadido posee una gran variabilidad espacial. Se observaron diferencias significativas entre distintos sectores de la Central Hidroeléctrica Yacyretá, tanto en las densidades como en la biomasa total alcanzadas. El sector extremo de la margen izquierda de la CHY sería un sitio que permite el asentamiento de individuos juveniles mientras que en el sector central se asentarían los individuos de mayor tamaño (≥ 15 mm). Las diferencias en la biomasa media observada pueden ser explicadas por una mayor densidad de individuos de mayor tamaño en el sector central de la CHY.
- Los modelos de crecimiento individual de von Bertalanffy ajustados para *Limnoperna fortunei* tuvieron constantes de crecimiento mayores que los ajustados en un área de clima templado e inferiores a los obtenidos en un área de clima subtropical.
- Los biocidas de origen orgánico ensayados mostraron una mayor efectividad contra estadios larvales que contra estadios adultos. El preparado con aceite de Nim mostró toxicidad aguda a las concentraciones ensayadas con larvas, por lo que su utilización en aguas abiertas se desaconseja; los preparados de taninos no mostraron superposición entre los rangos de concentraciones utilizados con larvas y las especies no blanco ensayadas. Los productos mostraron ser efectivos con adultos a 168 h (preparados de taninos) y 72 h (solución

Discusión general y Conclusiones

de aceite de Nim), por lo que se presentan como una alternativa viable para sistemas cerrados.

- *L. fortunei* produce estrés fisiológico en *C. fluminea* por *fouling* con un porcentaje de adhesión del 50% (Peso húmedo *Limnoperna* / peso húmedo *Corbicula*). En las condiciones ensayadas, no se produjo mortandad. De la literatura consultada, emergen dos preguntas: a) ¿Es el *fouling* el principal mecanismo por medio del cual *L. fortunei* impacta sobre *C. fluminea*, u otras especies de bivalvos infaunales? b) ¿Es posible que la relación entre *L. fortunei* y *C. fluminea* sea positiva (*i.e.* facilitación, *invasional meltdown*) en lugar de negativa (*i.e.* interferencia, competición)?
- El estudio de la bibliografía sobre invasiones en general y de *C. fluminea*, *D. polymorpha* y *L. fortunei* en particular, mostró un mayor énfasis en el estudio del problema de las EI y un menor énfasis en controlar / combatir las invasiones. En el caso del mejillón dorado, esto puede deberse más a problemas humanos (económicos, sociales, políticos) que biológicos. Se recomienda: a) mayor difusión de la problemática de las EI en general, y de *L. fortunei* en particular; b) direccionar las futuras investigaciones con el mejillón dorado a objetivos que ayuden a mitigar o controlar el problema (*e.g.* factores que determinan el establecimiento o la dispersión de la especie, niveles umbral a los cuales es posible controlar / erradicar las poblaciones, variabilidad espacio-temporal de las poblaciones, técnicas de control en el ambiente natural).

Bibliografía citada

- Abell R. 2002. Conservation Biology for the Biodiversity Crisis: a Freshwater Follow-up. *Conservation biology* 16:1435-1437.
- Aldridge D. 2004. The Recent and Rapid Spread of the Zebra Mussel (*Dreissena polymorpha*) in Great Britain. *Biological Conservation* 119:253-261.
- Aldridge DC, Elliott P & Moggridge GD. 2006. Microencapsulated BioBullets for the Control of Biofouling Zebra Mussel. *Environmental Science Technology* 40:975-979.
- Anderson LWJ. 2005. California's Reaction to *Caulerpa taxifolia*: a Model for Invasive Species Rapid Response. *Biological Invasions* 7:1003-1016.
- Angarano M-B, McMahon RF & Schetz JA. 2009. Cannabinoids Inhibit Zebra Mussel (*Dreissena polymorpha*) Byssal Attachment: a Potentially Green antifouling technology. *Biofouling* 25:127-38.
- Apte S, Holland BS, Godwin LS & Gardner JPA. 2000. Jumping Ship: a Stepping Stone Event Mediating Transfer of a Non-indigenous Species via a Potentially Unsuitable Environment. *Biological Invasions* 2:75-79.
- Arndt E. 2006. Niche Occupation by Invasive Ground-Dwelling Predator Species in Canarian Laurel Forests. *Biological Invasions* 8:893-902.
- Bachmann V, Usseglio-Polatera P, Cegielka E, Wagner P, Poinssaint JF & Moreteau JC. 1997. Preliminary observations about the coexistence of *Dreissena polymorpha*, *Corophium curvispinum* and *Corbicula* spp. in the River Moselle. *Bulletin Français de la Pêche et de la Pisciculture* 344/345:373-384. (Abstract).
- Bais HP, Vepachedu R, Gilroy S, Callaway RM & Vivanco JM. 2003. Allelopathy and Exotic Plant Invasion: From Molecules and Genes to Species Interactions. *Science* 301:1377-1380.

- Baker SM & Hornbach DJ. 1997. Acute Physiological Effects of Zebra Mussel (*Dreissena polymorpha*) Infestation on two Unionid Mussels, *Actiononaias ligamentina* And *Amblema plicata*. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 54:512-519.
- Baker SM & Hornbarch DJ. 2000. Physiological Status and Biochemical Composition of a Natural Population of Unionid Mussels (*Amblema plicata*) Infested by Zebra Mussels (*Dreissena polymorpha*). *American Midland Naturalist* 143:443-452.
- Baker SM & Levinton JS. 2003. Selective Feeding by Three Native North American Freshwater Mussels Implies Food Competition with Zebra Mussels. *Hydrobiologia* 505:97-105.
- Bampfylde CJ, Peters JA & Bobeldyk AM. 2010. A Literature Analysis of Freshwater Invasive Species Research: are Empiricists, Theoreticians, and Economists Working Together? *Biological Invasions* 12:1207-1219.
- Barmuta LA, Linke S & Turak E. 2011. Bridging the Gap between “Planning” and “Doing” for Biodiversity Conservation in Freshwaters. *Freshwater Biology* 56:180-195.
- Bauer G. 1992. Variation in the Life Span and Size of the Freshwater Pearl Mussel. *Journal of Animal Ecology* 61:425-436.
- Bax N, Hayes K, Marshall A, Parry D, & Thresher R. 2002. Man-Made Marinas as Sheltered Islands for Alien Marine Organisms: Establishment and Eradication of an Alien Invasive Marine Species, en Turning the Tide: the Eradication of Invasive Species. Proceedings of the International Conference of Eradication of Island Invasives, Occasional Paper of the IUCN Species Survival Commision. 26-39.
- Bax N, Williamson A, Aguero M, Gonzalez E & Geeves W. 2003. Marine Invasive Alien Species: a Threat to Global Biodiversity. *Marine Policy* 27:313-323.
- Belanger SE; Farris JL, Cherry DS & Chairs Jr. J. 1985. Sediment Preference of the Freshwater Asiatic Clam, *Corbicula fluminea*. *The nautilus* 99:66-73.

- Belz C, Darrigran G, Bonel N & Netto OSM. 2010. Density, Recruitment, and Shell Growth of *Limnoperna Fortunei* (Mytilidae), an Invasive Mussel in Tropical South America. *Journal of Shellfish Research* 25:227-233.
- Belz CE, Darrigran G, Netto OSM, Boeger WA & Ribeiro Junior PJ. En prensa. Analysis of Dispersion Vectors on Inland Waters: the case of a Invading Bivalves in South America.
- Bennick A. 2002. Interaction of Plant Polyphenols with Salivary Proteins. *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine* 13:184-196.
- Bergstrom DM, Lucieer A, Kiefer K, Wasley J, Belbin L, Pedersen TK & Chown SL. 2009. Indirect Effects of Invasive Species Removal Devastate World Heritage Island. *Journal of Applied Ecology* 46:73-81.
- Binimelis R Monterroso I & Rodríguez-Labajos B. 2007. A Social Analysis of the Bioinvasions of *Dreissena polymorpha* in Spain and *Hydrilla verticillata* in Guatemala. *Environmental management* 40:555-66.
- Blackburn TM, Cassey F, Duncan RP, Evans KL & Gaston KJ. 2004. Avian Extinction and Mammalian Introductions on Oceanic Islands. *Science* 305:1955-1958.
- Blackburn TM, Pyšek P, Sven B, Carlton JT, Duncan RP, Jarošík V, Wilson JRU & Richardson DM. 2011. A Proposed Unified Framework for Biological Bnvasions. *Trends in ecology & evolution* 26:333-339.
- Blossey B & Notzold R. 1995. Evolution of Increased Competitive Ability in Invasive Nonindigenous Plants: a Hypothesis. *Journal of ecology* 83:887-889.
- Bodamer BL & Bossenbroek JM. 2008. Wetlands as barriers: effects of vegetated waterways on downstream dispersal of zebra mussels. *Freshwater Biology* 53:2051-2060.
- Boeckman CJ & Bidwell JR. 2008. Status of Freshwater Native Mussels (Unionidae) in the Oklahoma Section of the Verdigris River after Introduction of the Zebra Mussel (*Dreissena polymorpha*, Pallas 1771). *American Malacological Bulletin* 25:1-8.
- Bogan AE. 2008. Global Diversity of Freshwater Mussels (Mollusca, Bivalvia) in Freshwater. *Hydrobiologia* 595:139-147.

- Boltovskoy D & Cataldo D. 1999. Population Dynamics of *Limnoperna fortunei*, an Invasive Fouling Mollusc, In the Lower Parana River (Argentina). *Biofouling* 14:255-263.
- Boltovskoy D, Izaguirre I & Correa N. 1995. Feeding Selectivity of *Corbicula fluminea* (Bivalvia) on Natural Phytoplankton. *Hydrobiologia* 312:171-182.
- Boltovskoy D, Correa N, Cataldo D & Sylvester F. 2006. Dispersion and Ecological Impact of the Invasive Freshwater Bivalve *Limnoperna fortunei* in the Río de la Plata Watershed and Beyond. *Biological Invasions* 8:947-963.
- Boltovskoy D, Karatayev A, Burlakova L, Cataldo D, Karatayev V, Sylvester F & Mariñelarena A. 2009a. Significant Ecosystem-Wide Effects of the Swiftly Spreading Invasive Freshwater Bivalve *Limnoperna fortunei*. *Hydrobiologia* 636:271-284.
- Boltovskoy D, Sylvester F, Otaegui A, Leites V & Cataldo D. 2009b. Environmental Modulation of Reproductive Activity of the Invasive Mussel *Limnoperna fortunei*: Implications for Antifouling Strategies. *Austral Ecology* 34:719-730.
- Boltovskoy D, Almada P & Correa N. 2011. Biological invasions: assessment of threat from ballast-water discharge in Patagonian (Argentina) ports. *Environment Science & Policy* 14:578-583.
- Bonel N. 2011. Demografía experimental de un bivalvo invasor, *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857), en la Cuenca del Plata. Tesis doctoral, Facultad de Ciencias Naturales y Museo – Universidad Nacional de La Plata, Buenos Aires, Argentina. pp 192.
- Bossenbroek JM, Johnson LE, Peters B & Lodge DM. 2007. Forecasting the Expansion of Zebra Mussels in the United States. *Conservation biology* 21:800-10.
- Brahmachari G. 2004. Neem — an Omnipotent Plant: Retrospection. *Chemical Biochemistry* 5:408-421.
- Briggs BSV. 2006. Integrating Policy And Science in Natural Resources: Why So Difficult? *Ecological Management & Restoration* 7:37-39.

- Britton D & Dingman S. 2011. Use of Quaternary Ammonium to Control the Spread of Aquatic Invasive Species by Wildland Fire Equipment. *Aquatic Invasions* 6:169-173.
- Britton JR, Brazier M, Davies GD & Chare IC. 2008. Case studies on eradicating the Asiatic Cyprinid *Pseudorasbora parva* from fishing lakes in England to prevent their riverine dispersal. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems* 18:867-876.
- Brook BW, Sodhi NS & Bradshaw CJA. 2008. Synergies among Extinction Drivers under Global Change. *Trends in Ecology & Evolution* 23:453-60.
- Brugnoli E, Clemente J & Boccardi L. 2005. Golden mussel *Limnoperna fortunei* (Bivalvia: Mytilidae) Distribution in the Main Hydrographical Basins Of Uruguay: *Anais Da Academia Brasileira De Ciencias* 77:235-244.
- Byers JE, Reichard S, Randall JM, Parker IM, Smith CS, Lonsdale WM, Atkinson IAE, Seastedt TR, Williamson M, Chornesky E & Hayes D. 2002. Directing Research to Reduce the Impacts of Nonindigenous Species. *Conservation Biology* 16:630-640.
- Buckley YM. 2008. The Role of Research for Integrated Management of Invasive Species, Invaded Landscapes and Communities. *Journal of Applied Ecology* 45: 397-402.
- Burlakova LE, Karatayev AY & Padilla DK. 2000. The Impact of *Dreissena Polymorpha* (Pallas) Invasion on Unionid Bivalves. *International Review of Hydrobiology* 85:529-541.
- Burlakova LE, Karatayev AY & Padilla DK. 2006. Changes in the distribution and abundance of *Dreissena polymorpha* within lakes through time. *Hydrobiologia* 571:133-146.
- Bøhn T, Amundsen P & Sparrow A. 2008. Competitive Exclusion after Invasion? *Biological Invasions* 10:359-368.
- Callaway RM & Ridenour WM. 2004. Novel Weapons: Invasive Success and the Evolution of Increased Competitive Ability. *Frontiers in Ecology and the Environment* 2:436-443.

- Callil CT. 2008. Cronologia da invasão, novos registros de ocorrência e traços populacionais de corvicolidae na America do Sul: um rastro para dispersão do mehilhão dourado? *VII Congreso Latinoamericano de Malacologia* 31.
- Caprari JJ. 2006. Pinturas antiincrustantes, en Darrigran G & Damborenea C. (eds.). Edulp, La Plata, Buenos Aires, Argentina. pp 183 – 213.
- Caraco NF, Cole JJ, Raymond PA, Strayer DL, Pace ML, Findlay SEG & Fischer DT. 1997. Zebra Mussel Invasion in a Large, Turbid River: Phytoplankton Response to Increased Grazing. *Ecology* 78:588-602.
- Carlton JT. 1996. Biological Invasions and Cryptogenic Species. *Ecology* 77:1653-1655.
- Castilla JC, Malva U, Bahamonde N, Clarke M, Desqueyroux-Faúndez R, Kong I, Moyano H, Rozbaczylo N, Santelices B, Valdovinos C & Zavala P. 2005. Down Under the Southeastern Pacific: Marine Non-Indigenous Species in Chile. *Biological Invasions* 7:213-232.
- Cataldo DH & Boltovskoy D. 2000. Yearly Reproductive Activity of *Limnoperna fortunei* (Bivalvia) as Inferred From the Occurrence of its Larvae in The Plankton of The Lower Paraná River and the Río de La Plata Estuary (Argentina). *Aquatic Ecology* 88:307-317.
- Cataldo DH, Boltovskoy D, Stripeikis J & Pose M. 2001. Condition Index and Growth Rates of Field Caged *Corbicula fluminea* (Bivalvia) as Biomarkers of Pollution Gradients in the Paraná River delta (Argentina). *Aquatic Ecosystem Health & Management* 4:187-201.
- Cataldo D, Boltovskoy D & Pose M. 2003. Toxicity of Chlorine and Three Nonoxidizing Molluscides to the Pest Mussel *Limnoperna fortunei*. *Journal AWWA* 95:66-78.
- Cataldo DH, Boltovskoy D, Hermosa JL & Canzi C. 2005. Temperature-Dependent Larval Development Rates of *Limnoperna fortunei* (Bivalvia: Mytilidae). *Journal of Molluscan Studies* 71:41-46.
- Catford J A, Jansson R & Nilsson C. 2009. Reducing Redundancy in Invasion Ecology by Integrating Hypotheses into a Single Theoretical Framework. *Diversity and Distributions* 15:22-40.

- Chase ME & Bailey RC. 1999. The Ecology of the Zebra Mussel (*Dreissena polymorpha*) in the Lower Great Lakes of North America: I. Population Dynamics and Growth. *Journal of Great Lakes Research* 25:107-121.
- Chew MK & Hamilton AL. 2011. The Rise and Fall of Biotic Nativeness: a Historical Perspective, en Fifty years of Invasion Ecology – The Legacy of Charles Elton. Richardson DM (Ed.). Blackwell Publishing, Oxford. 211-224.
- Chung KT, Wong TY, Wei CI, Huang YW & Lin Y. 1998. Tannins and Human Health: a Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 38:421-64.
- Clarke A, Barnes DKA & Hodgson DA. 2005. How Isolated is Antarctica? *Trends in ecology and evolution* 20:19-21.
- Clavero M & García-Berthou E. 2005. Invasive Species are a Leading Cause of Animal Extinctions. *Trends in Ecology & Evolution* 20:110.
- Clavero M & Hermoso V. 2011. Reservoirs Promote the Taxonomic Homogenization of Fish Communities within River Basins. *Biodiversity & Conservation* 20:41-57.
- Colautti RI & MacIsaac HJ. 2004. A Neutral Terminology to Define 'Invasive' Species. *Diversity and Distributions* 10:135-141.
- Colautti RI & Richardson DM. 2009. Subjectivity and Flexibility in Invasion Terminology: too much of a Good Thing? *Biological Invasions* 11:1225-1229.
- Colautti RI, Ricciardi A, Grigorovich IA & MacIsaac HJ. 2004. Is invasion Success Explained by the Enemy Release Hypothesis? *Ecology Letters* 7:721-733.
- Costa R, Aldridge DC & Moggridge GD. 2008. Seasonal Variation of Zebra Mussel Susceptibility to Molluscicidal Agents. *Journal of Applied Ecology* 45:1712-1721.
- Costa R, Aldridge DC & Moggridge GD. 2011a. Preparation and Evaluation of Biocide-Loaded Particles to Control the Biofouling Zebra Mussel, *Dreissena polymorpha*. *Chemical Engineering Research and Design*. DOI: 10.1016/j.cherd.2011.02.027
- Costa R, Elliot P, Aldridge DC & Moggridge GD. 2011b. Enhanced Mortality of the Biofouling Zebra Mussel, *Dreissena polymorpha*, Through the Application of Combined Control Agents. *Journal of Great Lakes Research* 37:272-278.

- Croll DA, Maron JL, Estes JA & Byrd GV. 2005. Introduced Predators Transform Subarctic Islands from Grassland to Tundra. *Science* 37:1959-1961.
- Crosby M & Gale L. 1990. A Review and Evaluation of Bivalve Condition Index Methodologies with a Suggested Standard Method. *Journal of shellfish research* 9:233-237.
- da Costa Fernandes & Neto. 2006. Agua de lastre como vía de introducción de especies a nivel global, en Darrigran G & Damborenea C. (eds.). Edulp, La Plata, Buenos Aires, Argentina. pp 40-53.
- Dale VH, Joyce LA, McNulty S, Neilson RP, Ayres MP, Flannigan MD, Hanson PJ, Irland LC, Lugo AE, Peterson CJ, Simberloff D, Swanson FJ, Stocks BJ & Michael Wotton B. 2001. Climate Change and Forest Disturbances. *BioScience* 51:723-734.
- Damborenea C & Penchazsadeh P. 2006. Biología reproductiva de *Limnoperna fortunei*, en Darrigran G & Damborenea C. (eds.). Edulp, La Plata, Buenos Aires, Argentina. pp 71-84.
- Danielsen F, Mendoza MM, Alviola P, Balete DS, Enghoff M, Poulsen MK & Jensen AE. 2003. Biodiversity Monitoring in Developing Countries: what are we trying to Achieve? *Oryx* 37:2002-2004.
- Darrigran G. 2002. Potential Impact of Filter-feeding Invaders on Temperate Inland Freshwater Environments. *Biological Invasions* 4:145-156.
- Darrigran J. 2006. Gobernabilidad de los recursos hídricos y las bioinvasiones, en Darrigran & Damborenea (Eds.) Bio-invasión del mejillón dorado en el continente americano. Edulp, La Plata, Buenos Aires, Argentina. 143-154.
- Darrigran G. 2008. Políticas de manejo sobre las bioinvasiones en aguas continentales del cono sur: ¿existen? *VII Congreso Latinoamericano de Malacología* 33.
- Darrigran G. 2010. Summary of the Distribution and Impacto of the Golden Mussel in Argentina and Neighboring Countries, en: Monitoring and Control of Macrofouling Mollusks in Fresh Water Systems, Mackie GL & Claudi R. (eds.). Taylor and Francis Group, Boca Raton. 389-396.

- Darrigran G & Pastorino G. 1995. The Recent Introduction of a Freshwater Asiatic Bivalve, *Limnoperna fortunei* (Mytilidae) into South America. *The Veliger* 38:171-175.
- Darrigran G & Ezcurra de Drago I. 2000. Invasion of the Exotic Freshwater Mussel *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857) (Bivalvia: Mytilidae) in South America. *The nautilus* 114:69-73.
- Darrigran G & Damborenea C. 2001. Concentraciones letales de un biocida para adultos del molusco invasor *Limnoperna fortunei* (Mytilidae) en: Actas Seminario Internacional sobre Gestión Ambiental e Hidroelectricidad, pp. 119-123. Salto Grande. Argentina.
- Darrigran G & Damborenea C. 2005. El mejillón dorado *Limnoperna fortunei* (Dunker 1857) en la Cuenca del Plata en, Invasores. Invertebrados exóticos en el Río de la Plata y región marina Aledaña. Pablo Penchazsadeh (Coord.). Editorial Universitaria de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina. pp. 39 – 103.
- Darrigran G & Damborenea C. 2006a. Bio-invasiones, en: Bio-invasión del mejillón dorado en el continente americano, en Darrigran G & Damborenea C. (eds.). Edulp, La Plata, Buenos Aires, Argentina. 17-43.
- Darrigran G & Damborenea C. 2006b. Características de la especie, en: Bio-invasión del mejillón dorado en el continente americano, en Darrigran G & Damborenea C. (eds.). Edulp, La Plata, Buenos Aires, Argentina. 55-70.
- Darrigran G & Damborenea C. 2006c. Aspectos generales vinculados a la prevención y el control, en Darrigran G & Damborenea C. (eds.). Edulp, La Plata, Buenos Aires, Argentina. 153-162.
- Darrigran G & Mansur MCD. 2006. Distribución, abundancia y dispersión, en: Bio-invasión del mejillón dorado en el continente americano, Darrigran G & Damborenea C. (eds.). Edulp, La Plata, Buenos Aires, Argentina. 93-106.
- Darrigran G & Damborenea C. 2011. Ecosystem Engineering Impact of *Limnoperna fortunei* in South America. *Zoological Science* 28:1-7.
- Darrigran G & Pereyra PJ. En prensa. Estandarización de métodos de control para *Limnoperna fortunei* (“mejillón dorado”) en centrales hidroeléctricas, en: Tópicos em Malacologia – Ecosdo XIX Encontro Brasileiro de Malacologia,

organizadores: dos Santos SB, Pimenta AD, Fernandez AO & Thiengo SC. Sociedade Brasileira de Malacologia, São Paulo, Brasil.

- Darrigran G, Martin SM, Gullo B & Armendariz L. 1998. Macroinvertebrates Associated with *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857) (Bivalvia, Mytilidae) in Río de la Plata, Argentina. *Hydrobiologia* 367:223-230.
- Darrigran G, Penchaszadeh P & Damborenea C. 1999. The reproductive Cycle of *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857) (Mytilidae) from a Neotropical Temperate Locality. *Journal of shellfish research* 18:361-365.
- Darrigran G, Damborenea C, Penchaszadeh P & Taraborelli C. 2003. Reproductive Stabilization of *Limnoperna fortunei* (Bivalvia, Mytilidae) after Ten Years of invasion in the Americas. *Journal of Shellfish Research* 22:141-146.
- Darrigran G, Damborenea C & Greco N. 2007a. An Evaluation Pattern for Antimacrofouling Procedures: *Limnoperna fortunei* larvae study in a Hydroelectric Power Plant in South America. *Ambio* 36:575-9.
- Darrigran G, Colautti D & Maroñas M. 2007b. A Potential Biocide for Control of the Golden Mussel, *Limnoperna fortunei*. *Journal Freshwater Ecology*. 22:359-360.
- Darrigran G, Vilches A & Legarrarde I. 2008. Desinterés del pasado, decisiones del futuro: educación para prevenir las invasiones biológicas. *Revista de educación en biología* 11:39-52.
- Darrigran G, Boeger W, Damborenea C & Maroñas M 2009. Evaluation of Sampling and Analysis Techniques for Early Detection of *Limnoperna fortunei* (Mytilidae) in Limit Areas of its Distribution. *Brazilian journal of biology* 69:979-80.
- Darrigran G, Damborenea C, Drago EC, Ezcurra de Drago I & Paira A. 2011. Environmental factors restrict the invasion process of *Limnoperna fortunei* (Mytilidae) in the Neotropical región: a case study for the Andes. *International Journal of Limnology* 47:221-229.
- Darrigran G, Bonel N, Colautti D & Cazzaniga NJ. En prensa. An Alternative Method to Assess Individual Growth of the Golden Mussel (*Limnoperna*

fortunei) in the Wild. *Journal of Freshwater Ecology*. DOI: 10.1080/02705060.2011.586159.

- Davis MA. 2003. Biotic Globalization: Does competition from Introduced Species Threaten Biodiversity? *BioScience* 53:481-489.
- Davis MA. 2006. Invasion Biology 1958-2005: the Pursuit of Science and Conservation, en: Cadotte MW, McMahon SM & Fukami T. (Eds.) *Conceptual Ecology and Invasions Biology: Reciprocal Approaches to Nature*. Springer, London, UK. 35-64.
- Davis MA. 2009. *Invasion Biology*. Oxford University Press, Oxford, New York, USA.
- Davis MA & Thompson K. 2000. Eight Ways to be a Colonizer; Two Ways to be an Invader: a Proposed Nomenclature Scheme for Invasion Ecology. *Bulletin Ecological Society of America* 81:226–230.
- Davis MA & Thompson K. 2002. “Newcomers” Invade the Field of Invasion Ecology: Question the Field’s Future. *Bulletin Ecological Society of America* 83:196–197
- Davis MA, Grime JP & Thompson K. 2000. Fluctuating Resources in Plant Communities: a General Theory of Invasibility. *Journal of ecology* 88:528-534.
- Davis M, Chew MK, Hobbs RJ, Lugo AE, Ewel JJ, Vermeij G, Brown JH, Rosenzweig ML, Gardener MR, Carroll SP *et al.* 2011. Don’t Judge Species on their Origins. *Nature* 474:9-10.
- de la Hoz Aristizába M. 2008. Primer registro en Colombia de *Corbicula fluminea* (Mollusca: Bivalvia: Corbiculidae), una especie invasora. *Boletín de Investigaciones Marinas Costeras* 37:197-202.
- de Oliveira MD. 2009. Factors Controlling the Density and Potential Distribution of Golden Mussel (*Limnoperna fortunei*, Dunker 1857) in the Upper Paraguay Basin. Ph.D. Thesis, Universidade Federal de Minas Gerais. <http://www.cpap.embrapa.br>
- de Oliveira MD, Takeda AM, de Barros LF, Barbosa DS & de Resende EK, 2006. Invasion by *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857) (Bivalvia, Mytilidae) of the Pantanal Wetland, Brazil. *Biological Invasions* 8:97-104.

- de Oliveira M, Hamilton S & Jacobi C. 2010a. Forecasting the Expansion of the Invasive Golden Mussel *Limnoperna fortunei* in Brazilian and North American Rivers Based on its Occurrence in the Paraguay River and Pantanal Wetland of Brazil. *Aquatic Invasions* 5:59-73.
- de Oliveira CRC, Fugi R, Brancalhão KP & Angostinho AA. 2010b. Fish as Potential Controllers of Invasive Mollusks in a Neotropical Reservoir *Natureza & Conservação* 8:140-144.
- de Oliveira MD, Hamilton SK, Calheiros CF, Jacobi CM & Latini RO. 2010c. Modeling the potential distribution of the invasive golden mussel *Limnoperna fortunei* in the Upper Paraguay River system using limnological variables. *Brazilian Journal of Biology* 70:831-840.
- de Oliveira MD, Calheiros DF, Jacobi CM & Hamilton SK. 2011. Abiotic Factors Controlling the Establishment and Abundance of the Invasive Golden Mussel *Limnoperna fortunei*. *Biological Invasions* 13:717-729.
- dos Santos CP, Würdig NL & Mansur MCD. 2005. Fases larvais do mexilhão dourado *Limnoperna fortunei* (Dunker) (Mollusca, Bivalvia, Mytilidae) na bacia do Guaíba, Rio Grande do Sul, Brasil. *Revista Brasileira de Zoologia* 22:702-708.
- Downing JA, Van Meter P & Woolnough DA. 2010. Suspects and Evidence: a Review of the Causes of Extirpation and Decline in Freshwater Mussels. *Animal Biodiversity and Conservation* 33:151-167.
- Durán Lalaguna C. & Anadón Marco A. 2008. The zebra Mussel Invasion in Spain and Navigation Rules. *Aquatic Invasions* 3:315-324.
- Durán C, Lanao M, Anadón A & Touyá V. 2010. Management Strategies for the Zebra Mussel Invasion in the Ebro Basin. *Aquatic Invasions* 5:309-316.
- Ehrenfeld JG. 2010. Ecosystem Consequences of Biological Invasions. *Annual Review in Ecology, Evolution and Systematics* 41:59-80.
- Ellstrand NC. 2009. Evolution of Invasiveness in Plants Following Hybridization. *Biological Invasions* 11:1089-1091.
- Elton CS. 1958. *The Ecology of Invasions by Animals and Plants*. Methuen, London, UK.

- Esler KJ, Prozesky H, Sharma GP & McGeoch M. 2010. How wide is the “Knowing-doing” gap in Invasion Biology? *Biological Invasions* 12:4065-4075.
- Espínola LA, Minte-Vera CV & Júlio HF. 2010. Invasibility of Reservoirs in the Paraná Basin, Brazil, to *Cichla kelberi* Kullander and Ferreira, 2006. *Biological Invasions* 12:1873-1888.
- Etter RJ, 1989. Life History Variation in the Intertidal Snail *Nucella lapillus* across a Wave Exposed Gradient. *Ecology* 70:1857-1876.
- Ezcurra del Drago, I, Montalto L & Oliveros OB. 2006. Desarrollo y ecología larval de *Limnoperna fortunei*. en: Bio-invasión del mejillón dorado en el continente americano, Darrigran, G & Damborenea C. (Eds.). Edulp, La Plata, Buenos Aires, Argentina, pp. 85-93.
- Falk-Petersen J, Bøhn T & Sandlund OT. 2006. On the Numerous Concepts in Invasion Biology. *Biological Invasions* 8:1409-1424.
- Finney DL. 1978. Statistical Method in Biological Assay. Third edition. Charles Griffin & Company Ltd. London and High Wycombe, UK.
- Fiori S & Morsán E. 2004. Age and Individual Growth of *Mesodesma mactroides* (Bivalvia) in the Southernmost Range of its Distribution. *ICES Journal of Marine Science* 61:1253-1259.
- Fisher SW, Dabrowska DL, Waller DL, Babcock-Jackson L & Zhang X. 1994. Sensitivity of Zebra Mussel (*Dreissena polymorpha*) Life Stages to Candidate Molluscicides. *Journal of Shellfish Research* 13:373-377.
- Fritts TH & Rodda GH. 1998. The Role of Introduced Species in the Degradation of Island Ecosystems: a Case History of Guam. *Annual Review of Ecology and Systematics* 29:113-140.
- Galbraith HS & Vaughn CC. 2009. Temperature and Food Interact to Influence Gamete Development in Freshwater Mussels. *Hydrobiologia* 636:35-47.
- Galil BS. 2000. A sea Under Siege – Alien Species in the Mediterranean. *Biological Invasions* 2:177-186.
- García ML & Protogino LC. 2005. Invasive Freshwater Molluscs are Consumed by Native fishes in South America. *Journal of Applied Ichthyology*. 21:34-38.

- GEF-UNDP-OMI GloBallast Partnerships & IOI 2009: Directrices para el status de evaluación de agua de lastre a nivel nacional. Monografías GloBallast Serie 17.
- Gherardi F. 2007. Biological Invasions In Inland Waters: an Overview, en Biological Invaders in Inland Waters: Profiles, Distribution, and Threats. Gherardi F. (Ed.). Springer, Berlín, Alemania. pp 3-25.
- Girish K & Shankara Bhat S. 2008. Neem – A Green Treasure. *Electronic Journal of Biology* 4:102-111.
- GISP (Global Invasive Species Program). 2006. Invasive Species and Poverty: Exploring the Links. Invasive Species Programme South African National Biodiversity Institute Cape Town, South Africa.
- Grosholz ED. 2002. Ecological and Evolutionary Consequences of Costal Invasions. *Trends in Ecology and Evolution* 17:22-27.
- Grosholz ED. 2005. Recent Biological Invasion may Hasten Invasional Meltdown by Accelerating Historical Introductions. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 102:1088-91.
- Gurevitch J & Padilla DK. 2004. Are invasive Species a Major Cause of Extinctions? *Trends in Ecology & Evolution* 19:470-474.
- Gutierrez JL, Jones, CG, Strayer DL & Iribarne O. 2003. Mollusks as Ecosystem Engineers: the role of Shell Production in Aquatic Habitats. *Oikos* 101:79-90.
- Haag WR, Berg DJ & Garton DW. 1993. Reduced Survival and Fitness in Native Bivalves in Response to Fouling by the Introduced Zebra Mussel (*Dreissena polymorpha*) in Western Lake Erie. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 50:13-19.
- Hagerman A. (2002). Tannin Chemistry. <http://www.users.muohio.edu/Hagermae/tannin.pdf>
- Hallac DE & Mardsen JE. 2001. Comparison of Conservation Strategies for Unionis Threatened by Zebra Mussels (*Dreissena polymorpha*): Periodic Cleaning vs. Quarantine and Translocation. *Journal of North American Benthological Society* 20:200-210.

- Havel JE & Medley KA. 2006. Biological Invasions across Spatial Scales: Intercontinental, Regional, and Local Dispersal of Cladoceran Zooplankton. *Biological Invasions* 8:459-473.
- Havel JE, Lee CE & Vander Zanden MJ. 2005. Do Reservoirs Facilitate Invasions into Landscapes? *BioScience* 55:519-525.
- Hay ME, Parker JD, Burkepile DE, Caudill CC, Wilson AE, Hallinan ZP & Cheque AD. 2004. Mutualisms and Aquatic Community Structure: the Enemy of my Enemy is My Friend. *Annual Review in Ecology, Evolution and Systematics* 35:175-197.
- Hebert PD, Muncaster BW & Mackie GL. 1989. Ecological and Genetic Studies on *Dreissena polymorpha* (Pallas): a New Mollusc in the Great Lakes. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 46:1587-1591.
- Hein CL, Vander Zanden MJ & Magnuson J. 2007. Intensive Trapping and Increased Fish Predation Cause Massive Population Decline of an Invasive Crayfish. *Freshwater Biology* 52:1134-1146.
- Hicke JA, Logan JA, Powel J & Ojima DS. 2006. Changing Temperatures Influence Suitability for Modeled Mountain Pine Beetle (*Dendroctonus ponderosae*) Outbreaks in the Western United States. *Journal of Geophysical Research* 111:1-12.
- Higgins S & Vander Zanden MJ. 2010. What a Difference a Species Makes: a Meta-analysis of Dreissenid Mussel Impacts on Freshwater Ecosystems. *Ecological Monograph* 80:179-196.
- Hopkins GA, Forrest BM, Jiang W & Gardner PA. 2011. Successful Eradication of a Non-indigenous Marine Bivalve from a Subtidal Soft-sediment Environment. *Journal of Applied Ecology* 48:424-431.
- Hulme PE. 2003. Biological invasions: Winning the Science Battles but Losing the Conservation War? *Oryx* 37:178-193.
- Hulme PE. 2006. Beyond control: wider implications for the management of biological invasions. *Journal of Applied Ecology*, 43:835-847.
- Hulme PE. 2009. Trade, Transport and Trouble: Managing Invasive Species Pathways in an Era of Globalization. *Journal of Applied Ecology* 46:10-18.

- Hulme PE, Bacher S, Kenis M, Klotz S, Kühn I, Minchin D, Nentwig W, Olenin S, Panov V, Pergl J, Pyšek P, Roques A, Sol D, Solarz W & Vilá M. 2008. Grasping at the Routes of Biological Invasions: a Framework for Integrating Pathways into Policy. *Journal of Applied Ecology* 45:403-414.
- Hulme PE, Nentwig W, Pyšek P & Vilá M. 2009. Common Market, Shared Problems: Time for a Coordinated Response to Biological Invasions in Europe? *Neobiota* 8:3-19.
- Ignacio BL, Julio LM, Junqueira AOR & Ferreira-Silva MAG. 2010. Bioinvasion in a Brazilian Bay: Filling Gaps in the Knowledge of Southwestern Atlantic Biota. *PLoS ONE* 5:e13065.
- International Maritime Organization (IMO). International convention on the control of harmful anti-fouling systems on ships, 2001 [Internet]. 2007 Sep 17. Available from: http://www.imo.org/includes/blastDataOnly.asp/data_id%3D20019/14.pdf
- Iwasaki K & Uryu Y. 1998. Life Cycle of a Freshwater Mytilid Mussel, *Limnoperna fortunei*, in Uji River, Kyoto. *Venus* 57:105-113.
- Jeschke JM. 2008. Across Islands and Continents, Mammals are More Successful Invaders than Birds. *Diversity and Distributions* 14:913-916.
- Jeschke JM. 2009. Across Islands and Continents, Mammals are More Successful Invaders than Birds (reply to Rodriguez-Cabal et al.). *Diversity and Distributions* 15:913-914.
- Jeschke JM & Strayer DL. 2005. Invasion Success of Vertebrates in Europe and North America. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 102:7198-202.
- Johnson PT, Olden JD & Vander Zanden MJ. 2008. Dam Invaders: Impoundments Facilitate Biological Invasions into Freshwaters. *Frontiers in Ecology and the Environment* 6:357-363.
- Jones LA & Ricciardi A. 2005. Influence of physicochemical factors on the distribution and biomass of invasive mussels (*Dreissena polymorpha* and *Dreissena bugensis*) in the St. Lawrence River. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science* 62:1953-1962.

- Jones CG, Lawton JH & Shachak M. 1994. Organisms as Ccosystem Engineers. *Oikos* 69:373-386.
- Karatayev AY, Burlakova LE, Kesterson T & Padilla DK. 2003. Dominance of the Asiatic Clam, *Corbicula fluminea* (Müller), in the Benthic Community of a Reservoir. *Journal of Shellfish Research* 22:487-493.
- Karatayev Y, Burlakova E & Padilla DK. 2005. Constrasting Distribution and Impacts of Two Freshwater Exotic Suspension Feeders, *Dreissena Polymorpha* and *Corbicula fluminea*, en The comparative roles of suspension-feeders in ecosystems. Dame R & Olenin S (Eds.). NATO Science Series: IV – Earth and Environmental Sciences. Springer, Berlin, Alemania. pp 239-262.
- Kararayev AY, Burlakova LE & Padilla DK. 2006. Growth Rate and Longevity of *Dreissena polymorpha* (Pallas): a Review and Recommendations for Future Study. *Journal of Shellfish Studies* 25:23-32.
- Karatayev AY, Padilla DK, Minchin D, Boltovskoy D & Burlakova LE. 2007a. Changes in Global Economies and Trade: the Potential Spread of Exotic Freshwater Bivalves. *Biological Invasions* 9:161-180.
- Karatayev AY, Boltovskoy D, Padilla DK & Burlakova LE. 2007b. The Invasive Bivalves *Dreissena Polymorpha* and *Limnoperna Fortunei*: Parallels, Contrasts, Potential Spread and Invasion Impacts. *Journal of Shellfish Research* 26:205-213.
- Karatayev AY, Burlakova LE, Padilla DK, Mastitsky SE & Olenin S. 2009. Invaders are not a Random Selection of Species. *Biological Invasions* 11:2009-2019.
- Karatayev AY, Burlakova LE, Karatayev VA & Boltovskoy D. 2010. *Limnoperna fortunei* versus *dreissena polymorpha*: Population Densities and Benthic Community Impacts of two Invasive Freshwater Bivalves. *Journal of Shellfish Research* 29:975-984.
- Kaufman L. 1992. Catastrophic Change in Species-rich Freshwater Ecosystems: the Lessons of Lake Victoria. *Bioscience* 42:846-858.
- Keane R & Crawley M. 2002. Exotic Plant Invasions and the Enemy Release hypothesis. *Trends in Ecology & Evolution* 17:164-170.

- Keller RP, Drake JM & Lodge DM. 2007. Fecundity as a Basis for Risk Assessment of Nonindigenous Freshwater Molluscs. *Conservation biology* 21:191-200.
- Kercher SM & Zedler JB. 2004. Multiple Disturbances Accelerate Invasion of Reed Canary Grass (*Phalaris arundinacea* L.) in a Mesocosm Study. *Oecologia* 138:455-64.
- Kercher SM, Herr-Turoff A & Zedler JB. 2007. Understanding Invasion as a Process: the Case of *Phalaris arundinacea* in Wet Prairies. *Biological Invasions* 9:657-665.
- Kimura T. 1994. The Earliest Record of *Limnoperna fortunei* (Dunker) from Japan. *Chiribotan* 25:34-35.
- Kolar CS & Lodge DM. 2001. Progress in Invasion Biology: Predicting Invaders. *Trends in Ecology & Evolution* 16:199-204.
- Knight AT, Cowling RM, Rouget M, Balmford A, Lombard AT & Campbell BM. 2008. Knowing but not doing: Selecting Priority Conservation Areas and the Research-implementation Gap. *Conservation Biology* 22:610-7.
- Larson BM. 2008. Who's invading What? Systems Thinking About Invasive Species. *Canadian Journal of Plant Science* 87:993-999.
- Levine JM & D'Antonio CM. 2003. Forecasting Biological Invasions with Increasing International Trade. *Conservation Biology* 17:322-326.
- Lewis BG. Mussel control and chlorination. 1985. Report no. TPRD/L/2810/R85, Central Electricity Research Laboratories, Leatherhead, Surrey.
- Lin W, Zhou G, Cheng X & Xu R. 2007. Fast Economic Development Accelerates Biological Invasions in China. *Plos ONE* 2:e1208.
- Lizarralde M, Escobar J, Deferrari G. 2004. Invader Species in Argentina: a Review about the Beaver (*Castor canadensis*): Population Situation on Tierra del Fuego Ecosystem. *Interciencia* 29:352-356.
- Lockwood JL, Cassey P & Blackburn TM. 2009. The more you Introduce the more you Get: the Role of Colonization Pressure and Propagule Pressure in Invasion Ecology. *Diversity and Distribution* 15:904-910.

- Lopes MN, Vieira JP & Burns MD. 2009. Biofouling of the Golden Mussel *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857) over the Anomura Crab *Aegla platensis* Schmitt, 1942. *Pan-American Journal of Aquatic Sciences* 4:222-225.
- Lupi F, Hoehn JP & Christie GC. 2003. Using an Economic Model of Recreational Fishing to Evaluate the Benefits of Sea Lamprey (*Petromyzon marinus*) Control on St. Marys River. *Journal of Great Lake Research* 29:742-754.
- Mack RN & Lonsdale WM. 2002. Eradicating Invasive Plants: Hard-won Lessons for Islands, en: Turning the tide: the Eradication of Invasive Species. Veitch CR & Clout MN (Eds.). Gland, Switzerland / Cambridge, UK: IUCN. Pp 164-172.
- Mack RN, Simberloff D, Lonsdale WM, Evans H, Clout M & Bazzaz F. 2000. Biotic Invasions: Causes, Epidemiology, Global Consequences and Control. *Issues in Ecology* 5:1-22.
- Mackie GL & Claudi R. 2010. Monitoring and Control of Macrofouling Mollusks in Fresh Water Systems. Taylor & Francis Group, Boca Raton, London, New York.
- Magara Y, Matsui Y, Goto Y & Yuasa A. 2001. Invasion of the Non-indigenous Nuisance Mussel, *Limnoperna fortunei*, into Water Supply Facilities in Japan. *Journal of Water Supply* 50:113-124.
- Mansur MC, Valer RM & Aires N. 1999. *Limnoperna fortunei* (Dunker 1857) molusco bivalve invasor na bacia do Guaíba, R o Grande do Sul, Brasil. *Biociencias* 7:147-149.
- Mansur MC, dos Santos CP, Darrigran D, Heydrich I, Callil CT & Cardoso FR. 2003. Primeiros dados quali-quantitativos do mexilhão-dourado, *Limnoperna fortunei* (Dunker), no Delta do Jacuí, no Lago Guaíba e na Laguna dos Patos, Rio Grande do Sul, Brasil e alguns aspectos de sua invasão no novo ambiente. *Revista brasileira de zoologia* 20:75-84.
- Marçal S & Callil C. 2008. Structure of Invertebrates Community Associated with *Eichhornia crassipes* Mart. (Solms-Laubach) After the Introduction of *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857) (Bivalvia, Mytilidae) in the Upper Paraguay River, MT, Brazil. *Acta Limnologica Brasileira* 20:359-371.

- Maron JL, Estes JA, Croll DA, Danner EM, Elmendorf SC & Buckelew SL. 2006. An introduced Predator alters Aleutian Island Plant Communities by Thwarting Nutrient Subsidies. *Ecological Monograph* 76:3-24.
- Maroñas ME, Darrigran GA, Sendra ED & Breckon G. 2003. Shell Growth of the Golden Mussel, *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857) (Mytilidae), in the Río de la Plata, Argentina. *Hydrobiologia* 495:41-45.
- Maroñas ME & Damborenea C. 2006. Efectos de biocidas y tolerancia a la exposición al aire, en Darrigran G & Damborenea C. (Eds.). Bio-invasión del mejillón dorado en el continente americano. Edulp, La Plata, Argentina.
- Martin S & Darrigran G. 1994. *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1897) en el balneario Bagliardi, Río de la Plata. Alteración de la malacofauna litoral. *Reunión Argentina de Limnología* 3:164-166.
- McCullagh P & Nelder JA. 1989. Generalized linear models, 2nd ed. Chapman and Hall. London, UK.
- McGeoch MA, Butchart SHM, Spear D, Marais E, Kleynhans EJ, Symes A & Chanson J. 2010. Global Indicators of Biological Invasion: Species Numbers, Biodiversity Impact and Policy Responses. *Diversity and Distributions* 16:95-108.
- McMahon RF, Bradley NS & Long DP. 1993. Laboratory Efficacies of Nonoxidizing Molluscicides on the Zebra Mussel (*Dreissena polymorpha*) and the Asian Clam (*Corbicula fluminea*), en Nalepa TF & Schloesser DW. (Eds.). Zebra Mussels. Biology, Impacts and Control. Lewis Publishers, Boca Raton, Florida.
- McNeely JA. 2006. As the World Gets Smaller, the Chances Of Invasion Grow. *Euphytica* 148:5-15.
- Meichtry de Zaburlín N, Peso JG, Garrido GG & Vogler RE. 2010. Sucesión espacio temporal del planctón y bentos en períodos posteriores al llenado del embalse Yacyretá (Río Paraná, Argentina-Paraguay). *Interciencia* 35:897-904.
- Meyerson LA & Mooney HA. 2007. Invasive Alien Species in an era of Globalization. *Frontiers in Ecology and the Environment* 5:199-208.
- Mitchell CE & Power AG. 2003. Release of Invasive Plants from Fungal and Viral Pathogens. *Nature* 421: 625-627.

- Morton B. 1973. Some Aspects of the Biology and Functional Morphology of the Organs of Feeding and Digestion of *Limnoperna fortunei* (Dunker) (Bivalvia: Mytilacea). *Malacologia* 12:265-281.
- Morton B. 1977. The Population Dynamics of *Limnoperna fortunei* (Dunker 1857) (Bivalvia: Mytilacea) in Plover Cove Reservoir, Hong Kong. *Malacologia* 16:165-182.
- Morton B. 1996. The Aquatic Nuisance Species: a Global Perspective and Review, en: Zebra Mussels and other Aquatic Species. D'itri F (Eds.). Ann Arbor Press, Ann Arbor, Michigan, USA. 1-54.
- Morton B, Au CS & Lam WW. 1976. Control of *Limnoperna fortunei*. *Journal of the Institution Water Engineers and Scientists* 30:147-156.
- Mouthon J & Parghentanian T. 2004. Comparison of the Life Cycle and Population Dynamics of two Corbicula Species, *C. fluminea* and *C. fluminalis* (Bivalvia: Corbiculidae) in two French canals. *International Review in Hydrobiology* 161:267-287.
- Mueiting S & Gerstenberger S. 2011. The 100th Meridian Initiative at the Lake Mead National Recreation Area, NV, USA: Differences between Boater Behaviors Before and After a Quagga Mussel, *Dreissena rostriformis bugensis*, Invasion. *Aquatic Invasions* 6:223-229.
- Munjiu O & Shubernetski I. 2010. First Record of Asian Clam *Corbicula fluminea* (Müller, 1774) in the Republic of Moldova. *Aquatic Invasions* 5:67-70.
- Myers JH, Simberloff D, Kuris AM & Carey JR. 2000. Eradication Revisited: Dealing with Exotic Species. *Trends in Ecology & Evolution* 15:316-320.
- Nagaya K, Matsui Y, Ohira H, Yuasa A, Yamamoto H, Ohkawa K & Magara Y. 2001. Attachment Strength of an Adhesive Nuisance Mussel, *Limnoperna fortunei*, against water flow. *Biofouling* 17:263-274.
- Nakano D, Kobayashi T, Endo T & Sakaguchi I. 2011. Growth Rate and Settlement of *Limnoperna fortunei* in a Temperate Reservoir. *Journal of Molluscan Studies* 77:142-148.

- Nalepa TF. 1994. Decline of Native Unionid Bivalves in Lake St. Clair after Infestation by the Zebra Mussel, *Dreissena polymorpha*. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 51:2227-2233.
- Nalepa TF, Wojcik JA, Fanslow DL, Lang GA. 1995. Initial colonization of the Zebra Mussel (*Dreissena polymorpha*) in Saginaw Bay, Lake Huron: Population Recruitment, Density and Size Structure. *Journal of Great Lakes Research* 21:417-434. Nichols SJ & Wilcox DA. 1997. Burrowing Saves Lake Erie Clams. *Nature* 389:921.
- Nichols SJ & Amberg J. 1999. Co-existence of Zebra Mussels and Freshwater Unionids: Populations Dynamics of *Leptodea fragilis* in a Coastal Wetland Infested with Zebra Mussels. *Canadian Journal of Zoology* 77:423-432.
- Novillo A & Ojeda RA. 2008. The Exotic Mammals of Argentina. *Biological Invasions* 10:1333-1344.
- Nuñez MA & Pauchard A. 2010. Biological Invasions in Developing and Developed Countries: does one Model fit all? *Biological Invasions* 12:707-714.
- Orensanz (Lobo) JE, Schwindt E, Pastorino G, Bortolus A, Casas G, Darrigran G, Elías R, López Gappa J, Obenat S, Pascual M, Penchazsadeh P, Piriz ML, Scarabino F, Spivak ED & Vallarino EA. 2002. No Longer the Pristine Confines of the World Ocean: a Survey of Exotic Marine Species in the Southwestern Atlantic. *Biological Invasions* 4:115-143.
- O'Dowd DJ, Green PT & Lake PS. 2003. Invasional "Meltdown" on an Oceanic Island. *Ecology Letters* 6:812-817.
- Paolucci EM, Cataldo D, Fuente CM & Boltovskoy D. 2007. Larvae of the Invasive Species *Limnoperna fortunei* (Bivalvia) in the Diet of Fish Larvae in the Paraná River, Argentina. *Hydrobiologia* 589:219-233.
- Paolucci EM, Cataldo DH & Boltovskoy D. 2010a. Prey Selection by Larvae of *Prochilodus lineatus* (Pisces: Curimatidae): Indigenous Zooplankton versus Veligers of the Introduced Bivalve *Limnoperna fortunei* (Bivalvia: Mitilidae). *Aquatic Ecology* 44:255-267.
- Paolucci EM, Thuesen EV, Cataldo DH & Boltovskoy D. 2010b. Veligers of an Introduced Bivalve, *Limnoperna fortunei*, are a New Food Resource that

Enhances Growth of Larval Fish in the Paraná River (South America).
Freshwater Biology 55:1831-1844.

- Parker IM, Simberloff D, Lonsdale WM, Goodell K, Wonham M, Kareiva PM, Williamson MH, Von Holle B, Moyle PB, Byers JE & Goldwasser L. 1999. Impact: Toward a Framework for Understanding the Ecological Effects of Invaders. *Biological Invasions* 1:3-19.
- Perez M, Garcia M, Blustein G & Stupak M. 2007. Tannin and Tannate from the Quebracho Tree: an Eco-friendly Alternative for Controlling Marine Biofouling. *Biofouling* 23:151-159.
- Pace ML, Strayer DL, Fischer D & Malcom HM. 2010. Recovery of Native Zooplankton Associated with Increased Mortality of an Invasive Mussel. *Ecosphere* 1:art3.
- Pastorino G, Darrigran GA, Martín SM & Lunaschi L. 1993. *Limnoperna fortunei* (Dunker 1857) (Mytilidae), nuevo bivalvo invasor en aguas del rio de la plata. *Neotropica* 39:101-102.
- Pauly D. 1984. Fish Population Dynamics in Tropical Waters: a Manual for Use with Programmable Calculator. *ICLARM Studies Reviews* 8. Manila, Phillippines. 325pp.
- Penchaszadeh PE, Darrigran G, Angulo C, Averbuj A, Brögger M, Dugliotti A & Pírez N. 2000. Predation of the Invasive Freshwater Mussel *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857) (Mytilidae) by the Fish *Leporinus obtusidens* valenciennes, 1846 (anostomidae) in the Río de la Plata, Argentina. *Journal of freshwater research* 19:229-231.
- Perepelizin PV & Demetrio B. 2011a. Resistance of the Invasive Pest Mussel *Limnoperna fortunei* to Anoxia: Implications for Biofouling Control. *Journal AWWA* 103:79-85.
- Perepelizin PV & Boltovskoy D. 2011b. Hot Water Treatment (Chronic Upper Lethal Temperature) Mitigates Biofouling by the Invasive Asian Mussel *Limnoperna fortunei* in Industrial Installations. *Environmental Science & Technology* 45:7868-7873.

- Pereyra PJ, Bulus Rossini G & Darrigran G. 2011. Toxicity of Three Commercial Tannins to the Nuisance Invasive Species *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857): implications for control. *Fresenius Environmental Bulletin* 20:1432-1437.
- Pérez M, Garcia M, Blustein G & Stupak M. 2007. Tannin and Tannate from the Quebracho Tree: an Eco-friendly Alternative for Controlling Marine Biofouling. *Biofouling* 23:151-159.
- Pimentel D, Zuniga R & Morrison D. 2005. Update on the Environmental and Economic Costs Associated with Alien-invasive Species in the United States. *Ecological Economics* 52:273-288.
- Pollux B, Minchin D, van der Velde G, Van Alen T, Moon Van der Staay SY & Hackstein J. 2003. Zebra mussels (*Dreissena polymorpha*) in Ireland, AFLP-fingerprinting and boat traffic both indicate an origin from Britain. *Freshwater Biology* 48:1127-1139.
- Purvis A, Jones KE & Mace GM. 2000. Extinction. *BioAssays* 22:1123-1133.
- Puth LM & Post DM. 2005. Studying Invasion: have we missed the Boat? *Ecology Letters* 8:715-721.
- Pyšek P & Richardson DM. 2006. The Biogeography of Naturalization in Alien Plants. *Journal of Biogeography* 33:2040-2050.
- Pyšek P & Richardson DM. 2010. Invasive Species, Environmental Change and Management, and Health. *Annual Review of Environment and Resources* 35:25-55.
- Pyšek P & Hulme PE. 2011. Biological invasions in Europe 50 years after Elton: time to sound the ALARM, en: Richardson DM. (Ed.). Fifty years of invasion ecology: the legacy of Charles Elton. Blackwell Publishing, Oxford. 73–88.
- Pyšek P, Richardson DM & Jarošík V. 2006. Who Cites who in the Invasion Zoo: Insights from an Analysis of the Most Highly Cited Papers in Invasion Ecology. *Preslia* 78:437-468.
- Pyšek P, Richardson DM, Pergl J, Jarošík J, Sixtová Z & Weber E. 2008. Geographical and Taxonomic Biases in Invasion Ecology. *Trends in Ecology & Evolution* 23:237-44.

- Pyšek P, Jarošík V, Hulme PE, Kühn I, Wild J, Arianoutsou M, Bacher S, Chiron F, Didziulis V, Essl F *et al.* 2010. Disentangling the Role of Environmental and Human Pressures on Biological Invasions across Europe. *Proceedings of National Academy of Science of United States of America* 107:12157-12162.
- Qian P-Y, Xu Y & Fusetani N. 2010. Natural Products as Antifouling Compounds: Recent Progress and Future Perspectives. *Biofouling* 26:223-34.
- Quaglia F, Lattuada L, Matencca P & Bacchetta R. 2008. Zebra mussels in Italy: where do they come from? *Biological Invasions* 10:555-560.
- Rahel FJ. 2000. Homogenization of Fish Faunas across the United States. *Science* 288:854-856.
- Rahel FJ. 2002. Homogenization of Freshwater Faunas. *Annual Review of Ecology and systematics* 33:291-315.
- Rajagopal S. 1997. The Ecology of Tropical Marine Mussels and Their Control in Industrial Cooling Water Systems. Ph.D. thesis, University of Nijmegen, Nijmegen, The Netherlands.
- Reaser JK, Meyerson LA, Cronk Q, de Poorter M, Eldrege LG, Green E, Kairo M, Latasi P, Mack RN, Mauremootoo J, O'Down D, Orapa W, Sastroutomo S, Saunders A, Thrainsson S. & Vaiutu L. 2007. Ecological and Socioeconomic Impacts of Invasive Alien Species in Island Ecosystems. *Environmental Conservation* 34:98-111.
- Relva MA, Nuñez MA & Simberloff D. 2009. Introduced Deer Reduce Native Plant Cover and Facilitate Invasion of Non-Native Tree Species: Evidence for Invasional Meltdown. *Biological Invasions* 12:303-311.
- Ricciardi A. 1998. Global Range Expansion of the Asian Mussel *Limnoperna fortunei* (Mytilidae): another Fouling Threat to Freshwater Systems. *Biofouling* 13:97-106.
- Ricciardi A. 2001. Facilitative Interactions among Aquatic Invaders: is an "Invasional Meltdown" Occurring in the Great Lakes? *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 58:2513-2525.

- Ricciardi A. 2003. Predicting the Impacts of an Introduced Species from its Invasion History: an Empirical Approach Applied to Zebra Mussel Invasions. *Freshwater Biology* 48:972-981.
- Ricciardi A. 2004. Assessing Species Invasions as a Cause of Extinction. *Trends in Ecology & Evolution* 19:619-619.
- Ricciardi A. 2005. Facilitation and Synergistics Interactions between Introduced Aquatic Species, en Invasive Alien Species: A New Synthesis. Mooney HA, Mack RN, McNeely JA, Neville LE, Schei PJ & Waage JK (Eds.). Island Press, Washington, USA.
- Ricciardi A. 2007. Are Modern Biological Invasions an Unprecedented Form of Global Change? *Conservation biology*: 21:329-36.
- Ricciardi A & MacIsaac HJ. 2000. Recent Mass Invasion of the North American Great Lakes by Ponto-Caspian Species. *Trends in ecology & evolution* 15:62-65.
- Ricciardi A & Atkinson SK. 2004. Distinctiveness Magnifies the Impact of Biological Invaders in Aquatic Ecosystems. *Ecology letters* 7:781-784.
- Ricciardi A & Kipp R. 2008. Predicting the Number of Ecologically Harmful Exotic Species in an Aquatic System. *Diversity and Distributions* 14:374-380.
- Ricciardi A & MacIsaac HJ. 2008. The Book that Began Invasion Ecology Charles Elton's 50 – year-old Text Founded a Field and is Now Cited more than ever. *Nature* 452:34.
- Ricciardi A & MacIsaac HJ. 2011. Impacts of Biological Invasions on Freshwater Ecosystems, en: Fifty years of Invasion Ecology – The Legacy of Charles Elton. Richardson DM (Ed.). Blackwell Publishing, Oxford. 211-224.
- Ricciardi A, Neves RJ & Rasmussen JB. 1996. Impact of the Dreissena invasion on Native Unionid Bivalves in the Upper St. Lawrence River. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 53:1434-1444.
- Ricciardi A, Neves RJ & Rasmussen JB. 1998. Impending extinctions of North American Freshwater Mussels (Unionoida) Following the Zebra Mussel (*Dreissena polymorpha*) invasion. *Journal of Animal Ecology* 67:613-619.
- Ricciardi A, Palmer ME & Yan ND. 2011. Should Biological Invasions be Managed as Natural Disasters? *BioScience* 61:312-317.

- Richardson DM. 2006. Pinus: a Model Group for Unlocking the Secrets of Alien Plant Invasions? *Preslia* 78:375-388.
- Richardson DM & Pyšek P 2006. Plant Invasions: Merging the Concepts of Species Invasiveness and Community Invasibility. *Progress in Physical Geography* 30:409-431.
- Richardson DM & Pyšek P. 2008. Fifty Years of Invasion Ecology – the Legacy of Charles Elton. *Diversity and Distribution* 14:161-168.
- Richardson DM, Pyšek P, Rejmánek M, Barbour G, Dane Panetta F. & West CJ. 2000. Naturalization and Invasion of Alien Plants: Concepts and Definitions. *Diversity and Distribution* 6:93–107.
- Richardson DM, Pyšek P, Simberloff D, Rejmanek M & Mader AD. 2008. Biological invasions - the Widening Debate: a Response to Charles Warren. *Progress in Human Geography* 32:295-298.
- Rodríguez JP. 2001. Exotic Species Introductions into South America: an Underestimated Threat? *Biodiversity and conservation* 10:1983-1996.
- Rodríguez-Cabal MA, Barrios-García N & Simberloff D. 2009. Across Island and Continents, Mammals are more Successful Invaders than Birds (Reply). *Diversity and Distributions* 15:911-912.
- Rojas Molina F & José de Paggi S. 2008. Zooplankton in the Paraná River Floodplain (South America) before and After the Invasion of *Limnoperna fortunei* (Bivalvia). *Wetlands* 28:695-702.
- Rolla ME & Mota HR. 2010. Response of a Major Brazilian Utility to the Golden Mussel Invasión, en: Monitoring and Control of Macrofouling Mollusks in Fresh Water Systems. Mackie GL & Claudi R. (Eds.). 396-403.
- Roman J & Darling JA. 2007. Paradox Lost: Genetic Diversity and the Success of Aquatic Invasions. *Trends in Ecology & Evolution* 22:454-64.
- Rosenzweig ML. 2001. The Four Questions: What does the Introduction of Exotic Species do to Diversity? *Evolutionary Ecology Research* 3:361-367.
- Rumi A, Gutiérrez-Gregoric DE, Núñez V, César II, Roche, MA, Tassara MP, Martín SM & López Armengol MF. 2006. Freshwater Gastropoda from

Argentina: Species Richness, Distribution Patterns, and an Evaluation of Endangered Species. *Malacologia* 49:189-208.

- Rumi A, Gutierrez Gregoric DE, Nuñez V & Darrigran GA. 2008. Malacología Latinoamericana. Moluscos de agua dulce de Argentina. *Revista de biología tropical* 56:77-111.
- Sagoff M. 2005. Do Non-native Species Threaten the Natural Environment? *Journal of Agricultural and Environmental Ethics* 18:215-236.
- Sala OE, Chapin III SF, Armesto JJ, Berlow E, Bloomfield J, Dirzo R, Hubert-Sanwald E, Huenneke LF, Jackson RB, Kizing A, Leemans R, Lodge DM, Mooney HA, Oestherheld M, Poff NL, Sykes MT, Walker BH, Walker M & Wall DH. 2000. Global Biodiversity Scenarios for the Year 2100. *Science* 287: 1770-1774.
- Sanders NJ, Gotelli NJ, Heller NE & Gordon DM. 2003. Community Disassembly by an Invasive Species. *Proceedings of the National Academy of Science* 100:2474-2477.
- Sardiña P, Cataldo DH & Boltovskoy D. 2008. The Effects of the Invasive Mussel, *Limnoperna fortunei*, on Associated Fauna in South American Freshwaters: Importance of Physical Structure and Food Supply. *Fundamental and Applied Limnology* 173:135-144.
- Sardiña P, Cataldo DH & Boltovskoy D. 2009. Effects of Conspecifics on Settling Juveniles of the Invasive Golden Mussel, *Limnoperna fortunei*. *Aquatic Sciences* 71:479-486.
- Sax D & Gaines SD. 2003. Species Diversity: from Global Decreases to Local Increases. *Trends in Ecology & Evolution* 18:561-566.
- Sax DF & Gaines SD. 2008. Species Invasions and Extinction: the Future of Native Biodiversity on Islands. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 105:11490-11497.
- Sax DF, Gaines SD & Brown JH. 2002. Species Invasions Exceed Extinctions on Islands Worldwide: a Comparative Study of Plants and Birds. *The American naturalist* 160:766-83.

- Scarabino F & Verde M. 1994. *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857) en la costa uruguaya del Río de la Plata (Bivalvia, Mytilidae). *Comunicaciones Sociedad Malacológica del Uruguay* 7:374-375.
- Schierenbeck KA & Ellstrand NC. 2008. Hybridization and the Evolution of Invasiveness in Plants and Other Organisms. *Biological Invasions* 11:1093-1105.
- Schloesser DW & Nalepa TF. 1994. Dramatic Decline of Unionid Bivalves in Offshore Waters of Western Lake Erie after Infestation by the Zebra Mussel, *Dreissena polymorpha*. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 51:2234-2242.
- Schloesser DW, Nalepa TF & Mackie G. 1996. Zebra Mussel Infestation of Unionid Bivalves (Unionidae) in North America. *American Zoologist* 310:300-310.
- Schloesser DW, Smithee RD, Longton GD & Kovalak WP. 1997. Zebra Mussel Induced Mortality of Unionids in Firm Substrata of Western Lake Erie and a Habitat for Survival. *American Malacological Bulletin* 14:67-74.
- Schmidlin S & Baur B. 2007. Distribution and Substrate Preference of the Invasive Clam *Corbicula fluminea* in the River Rhine in the Region of Basel (Switzerland, Germany, France). *Aquatic Sciences* 69:153-161.
- Seiden J, Way C & Rivkin R. 2010. Microbial Hitchhikers: Dynamics of Bacterial Populations in Ballast Water During a Trans-Pacific Voyage of a Bulk Carrier. *Aquatic Invasions* 5:13-22.
- Schaaf O, Jarvis AP, van der Esch SA, Giagnacovo G & Oldham NJ. 2000. Rapid and Sensitive Analysis of Azadirachtin and Related Triterpenoids from Neem (*Azadirachta indica*) by High-performance Liquid Chromatography-atmospheric Pressure Chemical Ionization Mass Spectrometry. *Journal of Chromatography A* 886:89-97.
- Shanley P & López C. 2009. Out of the Loop: Why Research Rarely Reaches Policy Makers and the Public and What can be done. *Biotropica* 41:535-544.
- Simberloff D. 2001a. Biological Invasions — how are they Affecting us, and what can we do About Them? *Western North American Naturalist* 61:308-315.

- Simberloff D. 2001b. Eradication of Island Invasives: Practical Actions and Results Achieved. *Trends in Ecology & Evolution* 16:273-274.
- Simberloff D. 2003. How much Information on Population Biology is needed to Manage Introduced Species? *Conservation Biology* 17:83-92.
- Simberloff D. 2005. Non-native Species DO Threaten the Natural Environment! *Journal of Agricultural and Environmental Ethics* 18:595-607.
- Simberloff D. 2006. Invasional Meltdown 6 Years Later: Important Phenomenon, Unfortunate Metaphor, or Both? *Ecology letters* 9:912-919.
- Simberloff D. 2009a. We can Eliminate Invasions or Live with Them? Successful Management Projects. *Biological Invasions* 11:149-157.
- Simberloff D. 2009b. The Role of Propagule Pressure in Biological Invasions. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics* 40:81-102.
- Simberloff D. 2010. Invasions of Plant Communities – More of the Same, Something Very Different, or Both? *American Midland Naturalist* 163:220-233.
- Simberloff D. 2011a. How common are Invasion-induced Ecosystem Impacts? *Biological Invasions* 13:1255-1268.
- Simberloff D. 2011b. Non-natives: 141 Scientists object. *Nature* 475:36-37.
- Simberloff D & Von Holle B. 1999. Positive Interactions of Nonindigenous Species: Invasional Meltdown? *Biological Invasions* 1:21-32.
- Sousa R, Nogueira AJA, Gaspar MB, Antunes C & Guilhermino L. 2008a. Growth and Extremely High Production of the Non-indigenous Invasive Species *Corbicula fluminea* (Muller, 1774): Possible Implications for Ecosystem Functioning. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 80:289-295.
- Sousa R, Antunes C & Guilhermino L. 2008b. Ecology of the Invasive Asian Clam *Corbicula fluminea* (Müller, 1774) in Aquatic Ecosystems: an Overview. *International journal of Limnology* 44:85-94.
- Sousa R, Gutiérrez JL & Aldridge DC. 2009. Non-indigenous Invasive Bivalves as Ecosystem Engineers. *Biological Invasions* 11:2367-2385.
- Sousa R, Pilotto F & Aldridge DC. 2011. Fouling of European freshwater bivalves (Unionidae) by the invasive zebra mussel (*Dreissena polymorpha*). *Freshwater Biology* 56:867-876.

- Strayer DL. 1999. Effects of Alien Species on Freshwater Mollusks in North America. *Journal of the North American Benthological Society* 18:74-98.
- Strayer DL. 2009. Twenty Years of Zebra Mussels: Lessons from the Mollusk that Made Headlines. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 7:135-141.
- Strayer DL. 2010. Alien Species in Fresh Waters: Ecological Effects, Interactions with Other Stressors, and Prospects for the Future. *Freshwater Biology* 55:152-174.
- Strayer DL & Smith LC. 1996. Relationships between Zebra Mussels (*Dreissena polymorpha*) and Unionid Clams during the Early Stages of the Zebra Mussel Invasion of the Hudson River. *Freshwater Biology* 36:771-779.
- Strayer DL & Malcom HM. 2006. Long-term Demography of a Zebra Mussel (*Dreissena polymorpha*) Population. *Freshwater Biology* 51:117-130.
- Strayer DL & Malcom HM. 2007. Effects of zebra mussels (*Dreissena polymorpha*) on native bivalves: the beginning of the end or the end of the beginning? *Journal of the North American Benthological Society* 26:111-122.
- Strayer DL, Caraco NF, Cole JJ, Findlay S & Pace, ML, 1999. Transformation of Freshwater Ecosystems by Bivalves. *Bioscience* 49:19-27.
- Strayer DL, Eviner ET, Jeschke JM & Pace ML. 2006. Understanding the Long-term Effects of Species Invasions. *Trends in Ecology & Evolution*, 21:645-51.
- Strayer DL, Pace ML, Caraco NF, Cole JJ & Findlay SEG. 2008. Hydrology and Grazing Jointly Control a Large-River Food Web. *Ecology* 89:12-18.
- Strayer DL, Cid N & Malcom HM. 2011. Long-term Changes in a Population of an Invasive Bivalve and its Effects. *Oecologia* 165:1063-1072.
- Stupak ME, García MT, & Perez MC. 2003. Non-toxic alternative Compounds for Marine Antifouling Paints. *International Biodeterioration & Biodegradation* 52: 49-52.
- Sylvester F, Dorado J, Boltovskoy D, Juárez A, Cataldo D. 2005. Filtration Rates of the Invasive Pest Bivalve *Limnoperna fortunei* as a function of Size and Temperature. *Hydrobiologia* 534:71-80.

- Sylvester F, Boltovskoy D & Cataldo D, 2007a. The Invasive Bivalve *Limnoperna fortunei* Enhances Benthic Invertebrate Densities in South American floodplain rivers. *Hydrobiologia* 589:15-27.
- Sylvester F, Boltovskoy D & Cataldo DH. 2007b. Fast Response of Freshwater Consumers to a New Trophic Resource: Predation on the Recently Introduced Asian bivalve *Limnoperna fortunei* in the lower Paraná River, South America. *Austral Ecology* 32:403-415.
- Taraborelli AC, Damborenea C, Penchaszadeh P & Darrigran G. 2002. Comparación del ciclo gonadal de *Limnoperna fortunei* (Dunker 1857) (Mytilidae), entre poblaciones de una localidad de clima templado y una subtropical (Cuenca del Plata, Argentina). Resúmenes: 139 V Congreso Latinoamericano de Malacología. 30-06-02 al 04-07-02, San Pablo, Brasil.
- Thresher RE & Kuris AM. 2004. Options for Managing Invasive Marine Species. *Biological Invasions* 6:295-300.
- Tompkins D, White A & Boots M. 2003. Ecological Replacement of Native Red Squirrels by Invasive Greys Driven by Disease. *Ecology Letters* 6:189-196.
- Towns DR, Atkinson IA & Daugherty CH. 2006. Have the Harmful Effects of Introduced Rats on Islands Been Exaggerated? *Biological Invasions* 8:863-891.
- Tucker JK. 1994. Colonization of Unionid Bivalves by the Zebra Mussel, *Dreissena polymorpha*, in Pool 26 of the Mississippi River. *Journal of Freshwater Ecology* 9:129-134.
- Uryu Y, Iwasaki K & Hinoue M. 1996. Laboratory Experiments on Behaviour and Movement of a Freshwater Mussel, *Limnoperna fortunei* (Dunker). *Journal of Molluscan Studies* 62: 327-341.
- USEPA U.S. Environmental Protection Agency. 1996a. Ecological effects test guidelines OPPTS 850.1010 Aquatic invertebrate acute toxicity test, freshwater daphnids. 712-C-96-114.
- USEPA U.S. Environmental Protection Agency. 1996b. Ecological effects test guidelines OPPTS 850.4200 Seed germination/root elongation toxicity test. 712-C-96-154.
- USEPA U.S. Environmental Protection Agency. 1996c. Ecological Effects Test

Guidelines OPPTS 850.1075 Fish Acute Toxicity Test, Freshwater and Marine. 712-C-96-118.

- Valéry L, Bouchard V & Lefevre J. 2004. Impact of the Invasive Native Species *Elymus athericus* on Carbon Pools in a Salt Marsh. *Wetlands* 24:268-276.
- Valéry L, Fritz H, Lefreuve J & Simberloff D. 2008. In Search of a Real Definition of the Biological Invasion Phenomenon Itself. *Biological Invasions* 10:1345-1351.
- Valéry L, Fritz H, Lefevre JC & Simberloff D. 2009. Ecosystem-level Consequences of Invasions by Native Species as a Way to Investigate Relationships Between Evenness and Ecosystem Function. *Biological Invasions* 11:609-617.
- Van Benschoten JE, Jensen JN, Harrington DK & DeGirolamo D. 1995. Zebra Mussel Mortality with Chlorine. *Journal AWWA* 87:101-8.
- Vander Zanden MJ, Hansen GJA, Higgins SN & Kornis MS. 2010. A Pound of Prevention, Plus a Pound of Cure: Early Detection and Eradication of Invasive Species in the Laurentian Great Lakes. *Journal of Great Lakes Research* 36:199-205.
- Vitousek PM & Walker L. 1989. Biological Invasion by *Myrica Faya* in Hawaii: Plant Demography, Nitrogen Fixation, Ecosystem Effects. *Ecological Monograph* 59:247-265.
- Vitousek PM, Mooney HA, Lubchenco J & Melillo JM. 1997. Human Domination of Earth's Ecosystems. *Science* 277:494-499.
- Vilà M, Basnou C, Pyšek P, Josefsson M, Genovesi P, Wolfgang N, Serjeg O, Roques A, David R & Hulme P. 2010. How well do we Understand the Impacts of Alien Species on Ecosystem Services? A pan-European, Cross-Taxa Assessment. *Frontiers in Ecology and the Environment* 8:135-144.
- Waller LD, Rach JJ, Cope WG, Marking LL, Fisher SW & Dabrowska H. 1994. Toxicity of Candidate Molluscicide to Zebra Mussels (*Dreissena polymorpha*) and selected nontarget organisms. *Journal Great Lakes Research* 19:695-702.

- Wang H, Xu Q, Cui Y & Liang Y. 2007. Macrozoobenthic Community of Poyang Lake, the Largest Freshwater Lake of China, in the Yangtze floodplain. *Limnology* 8:65-71.
- Warren CR. 2007. Perspectives on the `Aliens' versus `Native' Species Debate: a Critique of Concepts, Language and Practice. *Progress in Human Geography* 31:427-446.
- Werner S & Rothhaupt KO. 2008. Effects of the Invasive Asian Clam *Corbicula fluminea* on Benthic Macroinvertebrate Taxa in Laboratory Experiments. *Fundamental and Applied Limnology* 173:145-152.
- Whittier TR, Ringold PL, Herlihy AT & Pierson SM. 2008. A calcium-based invasion risk assessment for zebra and quagga mussels (*Dreissena* spp). *Frontiers in Ecology and the Environment* 6:180-184.
- WHO 2007. WHO Monographs on Selected Medicinal Plants. Zhang X. (coord.) Vol 3, World Health Organization, Geneva, Suiza.
- Williams DW & Liebhold AM. 2002. Climate Change and the Outbreak Ranges of Two North American Bark Beetles. *Agricultural and Forest Entomology* 4:87-99.
- Williams SL & Grosholz ED. 2008. The Invasive Species Challenge in Estuarine and Coastal Environments: Marrying Management and Science. *Estuaries and Coasts* 31:3-20.
- Williamson H & Fitter A. 1996. The Characters of Successful Invaders. *Biological Conservation* 78:163-170.
- Wilson JRU, Dormontt EE, Prentis PJ, Lowe AJ & Richardson DM. 2009. Biogeographic Concepts Define Invasion Biology. *Trends in Ecology & Evolution* 24:5347-5347.
- Wimbush J, Frischer ME, Zarzynski JW & Nierzwicki-Bauer. 2009. Eradication of Colonizing Populations of Zebra Mussel (*Dreissena polymorpha*) by Early Detection and SCUBA Removal: Lake George, NY. *Aquatic conservation* 19:703-713.
- Witte F, Goldschmidt T, Wanick J, van Oikien M, Goudswaard K, Witte-Maas E & Bouton N. 1992. The Destruction of an Endemic Species Flock: Quantitative

Data on the Decline of the Haplochromine Cichlids of Lake Victoria. *Environmental Biology of Fishes* 34:1-28.

- Wolfe BE. & Klironomos JN. 2005. Breaking New Ground: Soil Communities and Exotic Plant Invasion. *BioScience* 55:6: 477.
- Wright JP & Jones CG. 2006. The Concept of Organisms as Ecosystem Engineers Ten Years On: Progress, Limitations, and Challenges. *Biosciences* 56:203-209.
- Yebra DM, Søren K & Dam-Johansen K. (2004). Antifouling Technology- Past, Present and Future Steps Towards Efficient and Environmentally Friendly Antifouling Coatings. *Progress in Organic Coatings* 50:75-104.
- Young B, Padilla DK, Schneider SW & Hewett SW. 1996. The Importance of Size-Frequency Relationships for Predicting Ecological Impact of Zebra Mussel Populations. *Hydrobiologia* 332:151-158.
- Zalba SM & Villamil CB. 2002. Woody Species Invasion in the Rolling Pampa Grasslands, Argentina. *Biological Invasions* 3:271-278.
- Zar JH. 1999. Biostatistical Analysis 4th Edition. Prentice Hall, New Jersey, USA. 662 pp.
- Zhulidov AV, Kozhara AV, Scherbina GH, Nalepa TF, Protasov A, Afanasiev SA, Pryanichnikova EG, Zhulidov DA, Gurtovaya TYu & Pavlov DF. 2009. Invasion History, Distribution, and Relative Abundances of *Dreissena bugensis* in the Old World: a Synthesis Of Data. *Biological Invasions* 12:1923-1940.

Anexo I

Distribución de frecuencia de tallas para las muestras analizadas en el capítulo III a las que no se logró ajustar ningún modelo de crecimiento individual.

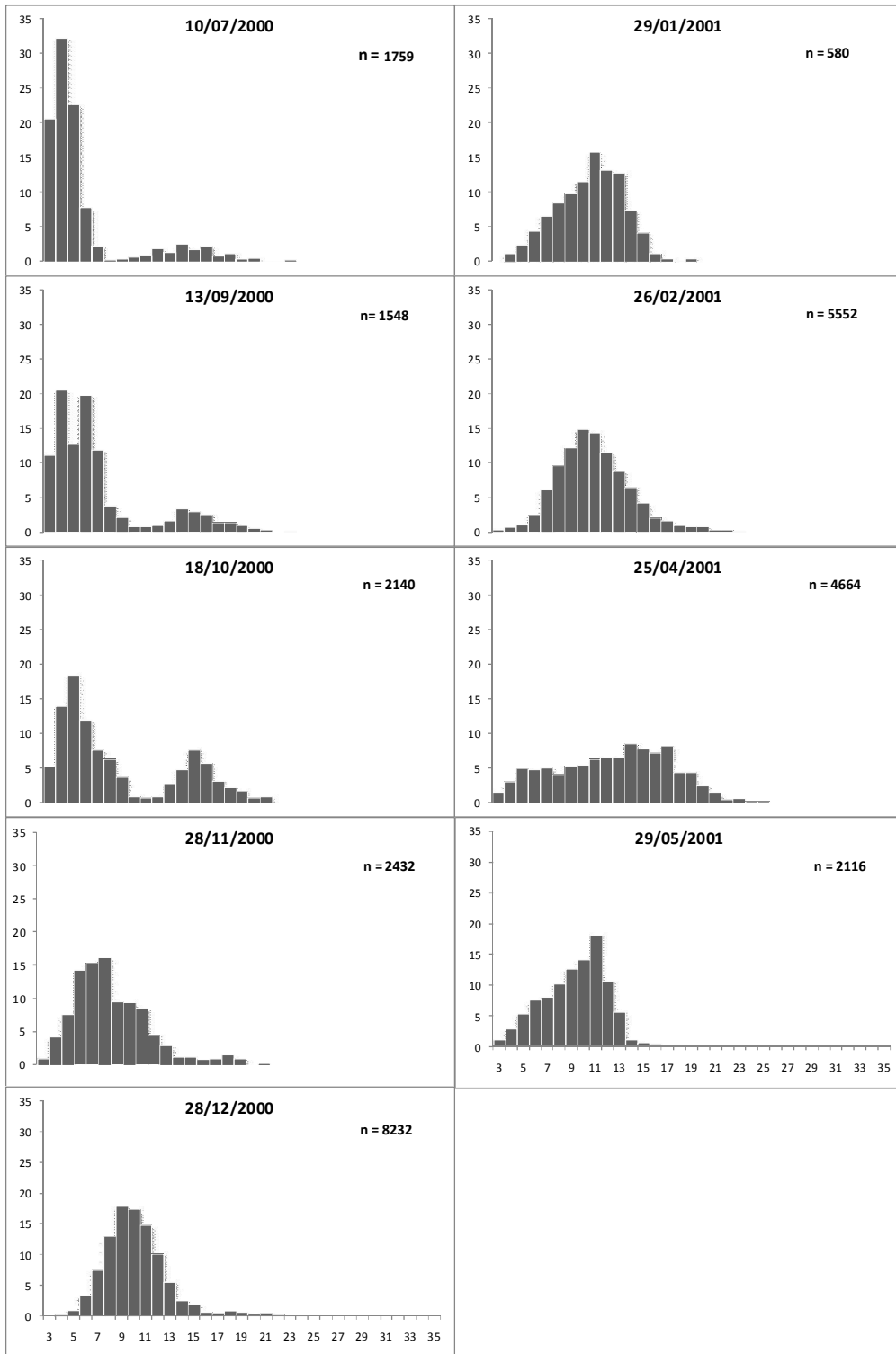


Figura I.1. Muestreadores E4

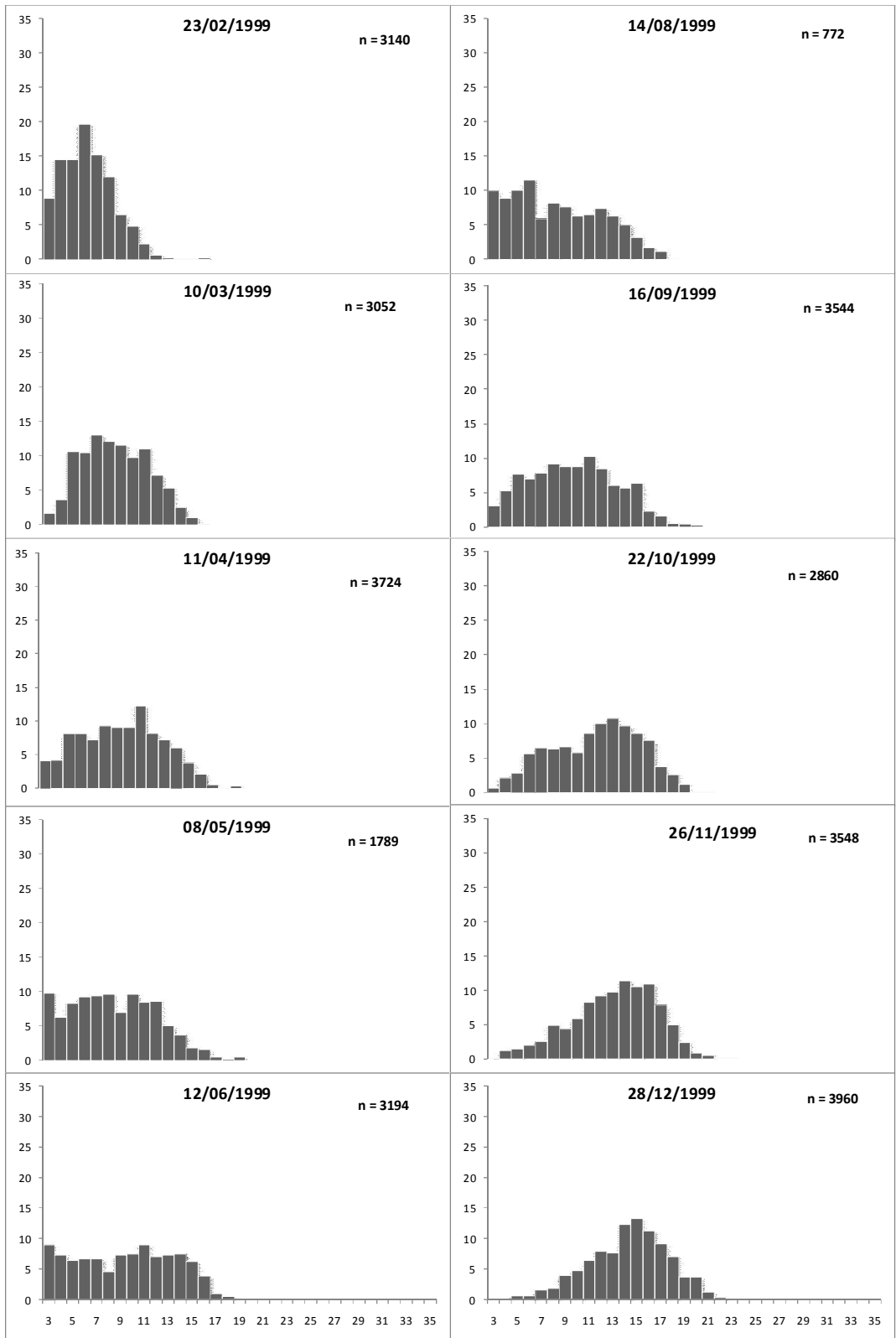


Figura I.2. Muestreadores C1

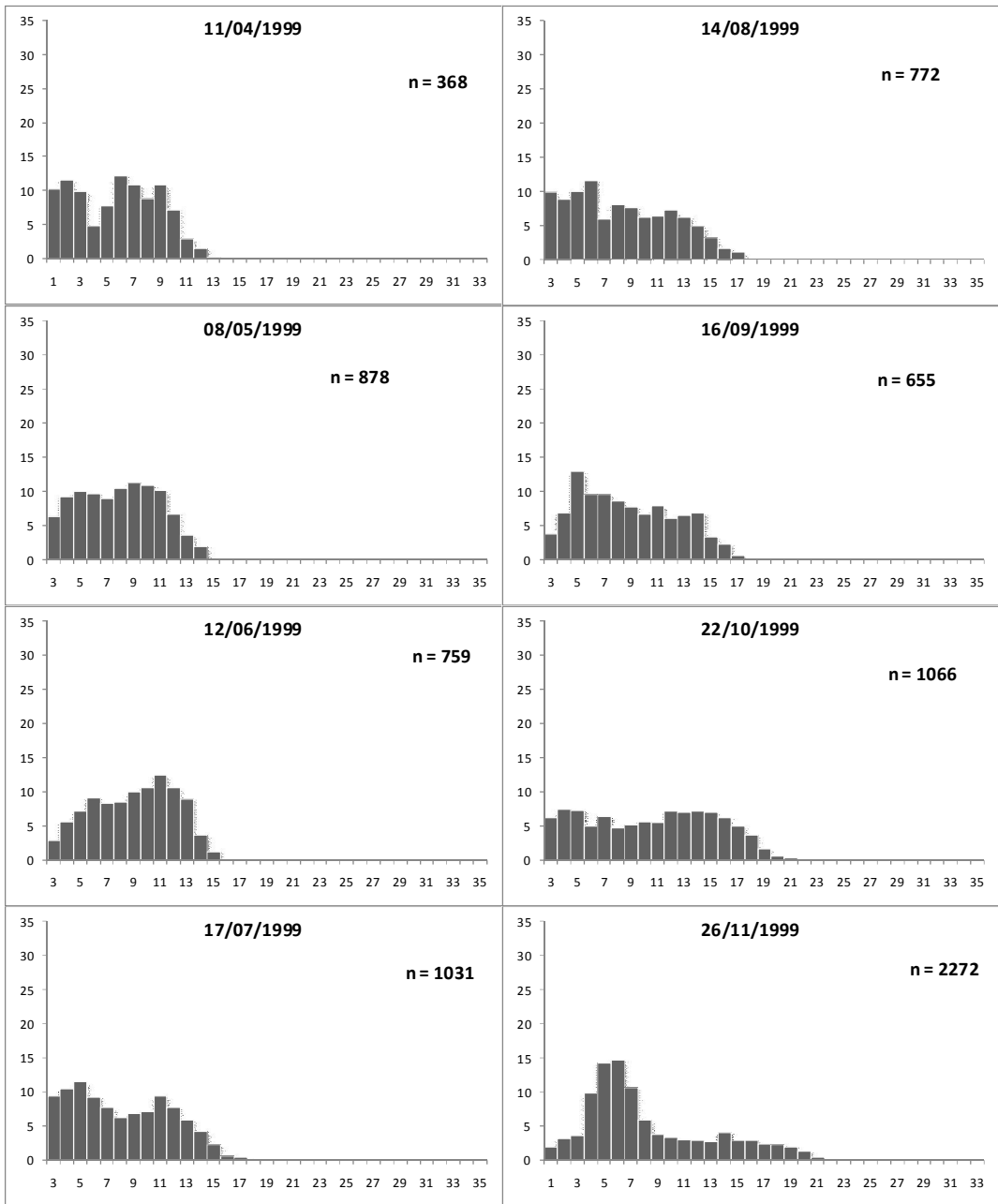


Figura I.2. Muestreadores C2

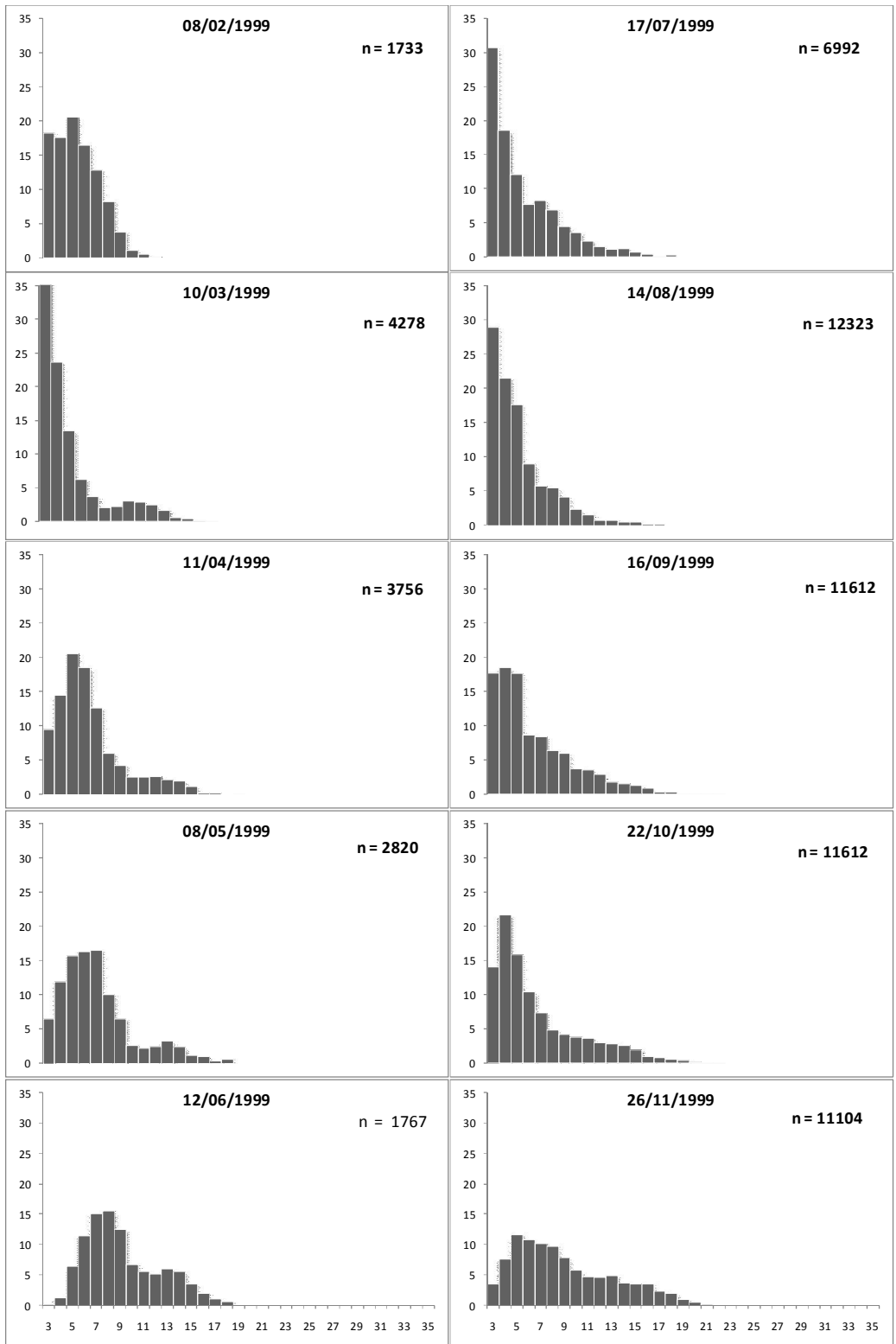


Figura I.2. Muestreadores E1

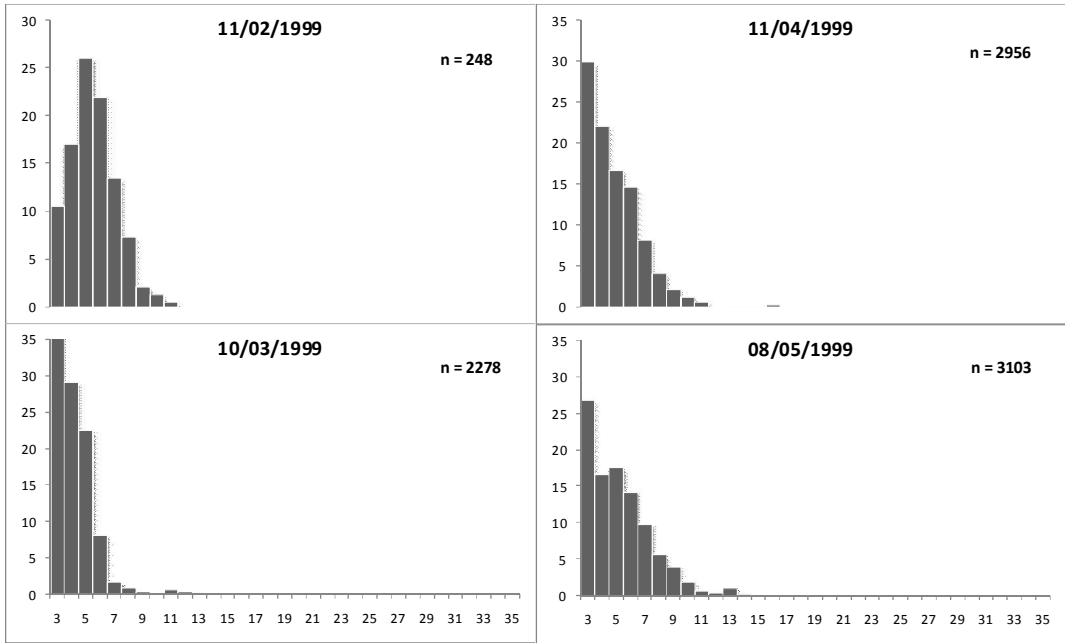


Figura I.2 Muestreadores E2

