



**UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS
ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS**



**“ANÁLISIS DE FACTORES DE RIESGO PARA NIVELES DE CALIGIDOSIS
(*CALIGUS ROGERCRESSEY*), EN SALMÓNIDOS CULTIVADOS EN EL
SUR DE CHILE”**

TADAISHI YATABE RODRÍGUEZ

Memoria para optar al
Título Profesional de Médico Veterinario
Departamento de Medicina Preventiva Animal

PROFESOR GUÍA: DR. SANTIAGO URCELAY VICENTE

SANTIAGO – CHILE

2009



**UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS
ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS**



**“ANÁLISIS DE FACTORES DE RIESGO PARA NIVELES DE CALIGIDOSIS
(*CALIGUS ROGERCRESSEY*), EN SALMÓNIDOS CULTIVADOS EN EL
SUR DE CHILE”**

TADAISHI YATABE RODRÍGUEZ

Memoria para optar al
Título Profesional de Médico Veterinario
Departamento de Medicina Preventiva Animal

	CALIFICACIÓN	FIRMA
PROFESOR GUÍA: DR. SANTIAGO URCELAY V.	_____	_____
PROFESOR CONSEJERO: DR. PEDRO SMITH S.	_____	_____
PROFESOR CONSEJERO: DR. PATRICIO RETAMAL M.	_____	_____

SANTIAGO – CHILE

2009

I. AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, quisiera agradecer a todas las personas que me han apoyado a lo largo de la elaboración de este proyecto, a mi profesor guía, el Dr. Santiago Urcelay, y a sus colaboradores, Gabriel Arriagada y Christopher Hamilton-West, por todo el apoyo y los consejos entregados durante el proceso de planificación y desarrollo del trabajo. Al Servicio Nacional de Pesca (SERNAPESCA), por la facilitación de los datos utilizados en este estudio. Al Dr. Julio Di Rienzo, de la Universidad Nacional de Córdoba, Argentina, por su importante colaboración en el proceso de desarrollo del modelo utilizado en el análisis de los datos. Agradezco también a mis amigos, con quienes compartimos desde nuestros inicios el privilegio y la responsabilidad de pertenecer a esta escuela.

Finalmente, y de manera muy especial, agradezco a mi familia, a mis hermanos Kennosuke y Yasutaro, y sobre todo a nuestra madre, María Angélica, quien por su amor incondicional, e incansable esfuerzo y apoyo, nos ha guiado, y seguirá guiándonos, por la senda de la honestidad, del trabajo riguroso y de la autosuperación.

II. RESUMEN

El piojo de mar (*Caligus rogercresseyi*) es un copépodo ectoparásito que afecta a la industria del cultivo de salmónidos en el sur de Chile, disminuyendo el estado de salud de los peces y produciendo pérdidas económicas directas e indirectas. Miembros de la industria han notificado niveles de infestación crecientes desde 2004, alcanzándose los máximos niveles en 2007.

En respuesta a esta situación, el Servicio Nacional de Pesca (SERNAPESCA) desarrolló un sistema de vigilancia, cuyo primer paso consistió en realizar una revisión general a lo largo de los centros de cultivo de salmónidos. Esta incluyó la medición de los niveles de infestación en los peces y el registro de varios factores derivados de condiciones de manejo y ambientales.

El objetivo del presente estudio fue identificar los factores de riesgo para los niveles observados de infestación, derivados de las variables ambientales y de manejo registradas en dicha etapa. La información fue analizada utilizando el método de los modelos lineales de efectos mixtos (MLM), el cual permite la estimación del efecto de los factores de riesgo y la descomposición de la variación no explicada, asignándola a los diferentes niveles de anidamiento del sistema productivo, en este caso subzona, centro de cultivo y jaula.

Las variables zona geográfica, especie de los peces, tratamientos contra el piojo de mar aplicados un mes antes del muestreo, densidad de cultivo, peso de los peces y salinidad del agua, estuvieron significativamente asociadas con los niveles de infestación con piojo de mar. Tratamientos dos y tres meses antes del muestreo, uso del fotoperiodo en las balsas jaula y la temperatura del agua no resultaron significativas.

La variación no explicada fue significativa en todos los niveles de anidamiento, siendo la variación a nivel de centro de cultivo la mayor. Entre las causas de tal variación pueden participar diversos factores, incluyendo diferencias en las corrientes marinas locales, en la distribución de los hospederos silvestres, en el estatus sanitario de los centros, o de las jaulas dentro de estos, y diferencias en prácticas o eventos potencialmente estresantes, como tratamientos con medicamentos y vacunas inyectables, o ataques de lobos marinos y pájaros, entre otros. Finalmente, se proponen futuras áreas de investigación que permitan mejorar la comprensión y el control de esta enfermedad.

III. SUMMARY

Sea lice (*Caligus rogercresseyi*) is an ectoparasitic copepod which affects salmon farming industry in southern Chile, diminishing the health status of the fish and producing both direct and indirect economic losses. Local salmon farmers have reported increasing levels of infestation since 2004, reaching the highest levels in 2007.

In response to this situation the National Fisheries Service, SERNAPESCA, developed a surveillance program, which first step consisted in a general survey across the salmon farms. This included counts of parasite loadings on fish, and measurement of several husbandry and environmental factors.

The aim of this study was to identify risk factors for the observed infestation levels, emerging from the environmental and management factors registered at this stage. The information was analyzed using linear mixed models technique, which permits estimation of the risk factors effect, and to decompose the unexplained variation, assigning it to the different aggregation levels of the production system.

The variables geographic zone, fish species, treatment one month before sampling, stocking density, fish weight and water salinity were significantly associated with sea lice burdens. Treatment performed two and three months before sampling, use of photoperiod in sea cages, and water temperature were not significant.

There was significant unexplained variation at all levels of aggregation, namely sub-zone, farm and cage level, being the farm level variation the greatest. Among the causes of such variation there could be several factors, including local water currents, differences in native hosts distribution, different health status among centers, or between cages within a center, and differences in potentially stressful practices or events, like treatments with injectable drugs and vaccines or attacks by seals and birds. Future areas of research are proposed in order to improve the understanding and control of this disease.

IV. ÍNDICE

CONTENIDO	PÁGINA
1. INTRODUCCIÓN.....	6
2. REVISIÓN BILIOGRÁFICA.....	8
3. OBJETIVOS.....	13
4. MATERIALES Y MÉTODOS.....	14
5. RESULTADOS.....	21
6. DISCUSIÓN.....	28
7. CONCLUSIONES.....	40
8. RECOMENDACIONES.....	41
9. BIBLIOGRAFÍA.....	42

1. INTRODUCCIÓN

La acuicultura es uno de los sectores de la producción de alimentos de más rápido crecimiento en el mundo, y muestra uno de los mayores potenciales para satisfacer la creciente demanda de productos alimenticios acuáticos a nivel mundial, dada la estabilización y las limitadas perspectivas de crecimiento de la producción derivada de la pesca extractiva (FAO, 2006). La mayor parte de la producción acuícola chilena, tanto en volumen como en valor, corresponde al cultivo de salmónidos (salmón del Atlántico, *Salmo salar*; salmón coho, *Oncorhynchus kisutch*; y trucha arco iris, *O. mykiss*, principalmente), con alrededor de 657 mil toneladas estimadas el año 2008 (SalmonChile, 2009), representando alrededor del 80% de la producción acuícola nacional.

A pesar de este auspicioso panorama, la salmonicultura, como la mayoría de los sistemas de producción animal intensiva, ve continuamente amenazada su viabilidad producto de la aparición de enfermedades (Revie *et al.*, 2007). En algunos casos estas pueden generarse a partir de la multiplicación de bacterias o virus patógenos, como es el caso de la anemia infecciosa del salmón (ISA) o de la necrosis pancreática infecciosa (IPN), las cuales suelen acompañarse de signos clínicos y pérdidas agudas en la producción (Georgiadis *et al.*, 2001). En otros casos las enfermedades pueden originarse a partir de la exposición a estados infecciosos de endo o ectoparásitos presentes en la columna de agua, los cuales se vuelven importantes y afectan la producción a medida que aumentan su prevalencia y abundancia (Pike y Wadsworth, 1999).

La caligidosis es una parasitosis externa, causada por copépodos pertenecientes a los géneros *Lepeophtheirus* y *Caligus* (comúnmente llamados piojos de mar), la que en países como Noruega, Canadá, Irlanda, Escocia y Chile, donde el cultivo de salmónidos contribuye crecientemente a la producción agroalimentaria nacional, representa una importante amenaza para la producción (Revie *et al.*, 2002), además de considerarse como una amenaza para las poblaciones silvestres de salmónidos en Europa y Columbia Británica (Costello, 2006). En el caso de la salmonicultura chilena la especie parásita predominante es *Caligus rogercresseyi* (Carvajal *et al.*, 1998), la cual ha presentado, de acuerdo a monitoreos de la industria del salmón, un aumento

en el número de jaulas positivas y en la intensidad de la infestación en los últimos años (Rozas y Asencio, 2007). Entre las posibles causas de este incremento de la caligidosis, se postula el posible desarrollo de resistencia del parásito al benzoato de emamectina, única droga permitida por la autoridad sanitaria hasta el 2007, año en que se autorizaron los baños con peróxido de hidrógeno ante casos de altos niveles de infestación parasitaria (Rozas y Asencio, 2007; Hamilton-West *et al.*, 2008).

Como respuesta frente a esta situación sanitaria, el Servicio Nacional de Pesca (SERNAPESCA) decidió implementar un programa oficial de vigilancia para determinar la situación real de la caligidosis en los centros de cultivo de salmónidos en el sur de Chile, y recolectar información relevante sobre variables ambientales y de manejo para permitir el desarrollo de estrategias de control contra esta parasitosis (Hamilton-West *et al.*, 2008).

El propósito del presente trabajo es analizar la información recolectada mediante este sistema de vigilancia oficial, para evaluar el efecto de los diversos factores de riesgo, derivados de condiciones de manejo y ambientales, sobre los niveles de caligidosis en salmónidos cultivados en el sur de Chile, basándose en la información recolectada por SERNAPESCA en el mes de agosto de 2007.

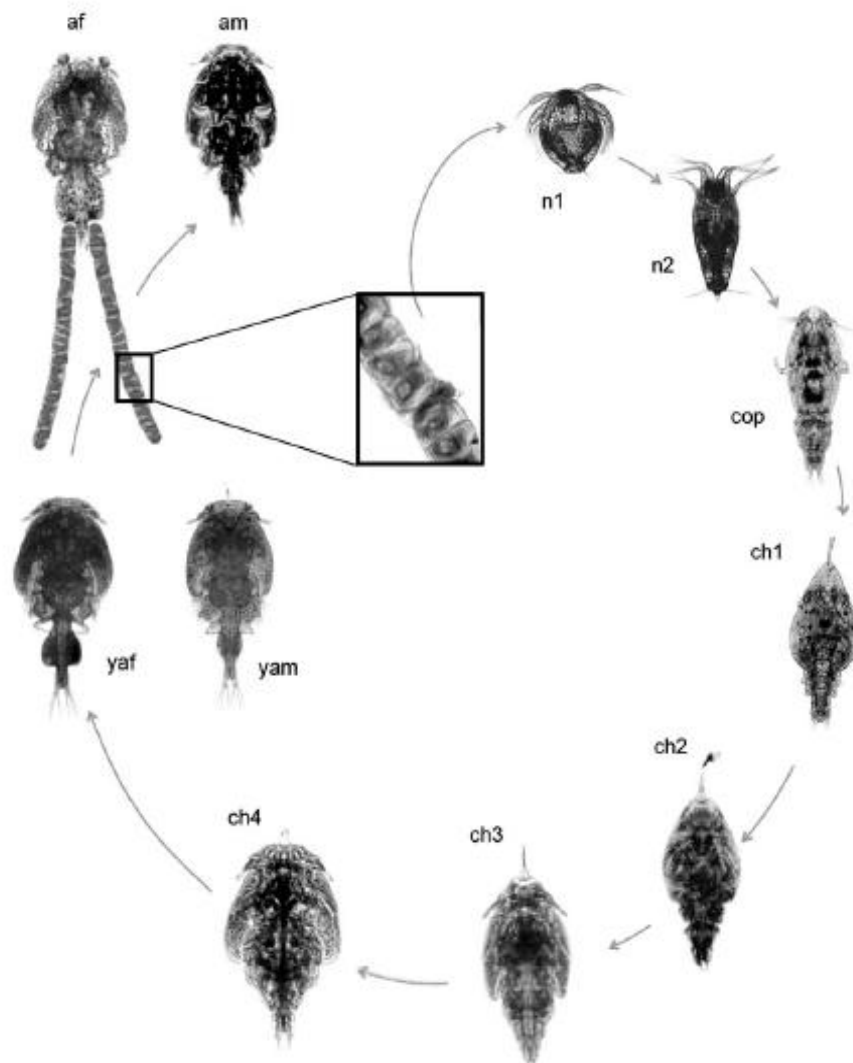
2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Los miembros de la familia Caligidae, llamados comúnmente piojos de mar, son los copépodos más frecuentemente detectados en peces cultivados en agua salobre y marina alrededor del mundo, representando aproximadamente el 61% de todos los reportes (Johnson *et al.*, 2004).

En Chile la especie calígida predominante que afecta a la industria del salmón y la trucha es *Caligus rogercresseyi*. Puesto que los salmónidos se encontraban libres de parásitos metazoarios al ser introducidos al país, se cree que este parásito fue transmitido en un comienzo desde especies nativas de peces, como el róbalo (*Eleginops maclovinus*) y el pejerrey (*Odonthestes regia*), los que también presentan este parásito y se encuentran frecuentemente en la vecindad de las jaulas de salmónidos (Carvajal *et al.*, 1998).

C. rogercresseyi tiene un ciclo de vida compuesto por ocho estadios de desarrollo, tres planctónicos y cinco parasíticos. Los planctónicos comprenden dos estadios nauplius (nauplius I y II) y uno de copepodito, que es el estadio infectante para los peces. Los parasíticos incluyen cuatro estadios chalimus (desde chalimus I al IV), terminando en hembras y machos adultos (Figura N° 1). El copepodito se asienta en el pez mediante un par de antenas modificadas como ganchos. Durante su proceso de desarrollo, el parásito aumenta de tamaño progresivamente y se encuentra adherido en todo momento a la superficie del pez (González y Carvajal, 2003). El adulto es móvil y su cuerpo está diseñado para que el flujo de agua lo presione contra la superficie del pez hospedero (Costello, 2006). El tiempo en el cual se completa el ciclo de vida a través de los distintos estadios de desarrollo depende directamente de la temperatura del agua. González y Carvajal (2003) describen que en trucha arco iris el ciclo de vida dura 45 días a una temperatura de 10,3 °C, 32 días a 12,8 °C y 26 días a 15,2 °C. Además se ha estimado que el umbral mínimo de temperatura para el desarrollo del parásito es de 4,2 °C.

Figura N° 1: Ciclo biológico de *C. rogercresseyi*



Ciclo biológico de *C. rogercresseyi*. n1: nauplius 1; n2: nauplius 2; cop: copepodito; ch1: chalimus 1; ch2: chalimus 2; ch3: chalimus 3; ch4: chalimus 4; yaf: hembra adulta joven; yam: macho adulto joven (yaf y yam no son estados de desarrollo distintos de los adultos); am: macho adulto; af: hembra adulta con sacos ovígeros. Tomado de González y Carvajal, 2003.

A excepción de los estadíos naupliares, el piojo de mar se alimenta de mucus, piel y sangre de su hospedero (González *et al.*, 2000), siendo sus actividades de adhesión y alimentación las responsables del daño directo que ocasionan sobre los peces (Johnson *et al.*, 2004).

Sus efectos patógenos sobre la piel del hospedero incluyen pérdida del epitelio, sangramiento, descarga mucosa aumentada, alteración de la bioquímica del mucus, necrosis tisular y la consecuente pérdida de función de la piel como barrera física y microbiológica (Costello, 2006).

De esta manera los peces afectados reducen su apetito, crecimiento y eficiencia de conversión alimentaria, mientras que el estrés y las lesiones producidas por el parásito los hacen más susceptibles a infecciones secundarias producto de una inmunocompetencia disminuida (Costello, 2006). Se ha descrito que la infestación con el piojo de mar puede ocasionar la muerte directa del pez, producto de un estrés osmorregulatorio generado a partir de las lesiones que produce en la piel del hospedero (Johnson *et al.*, 2004; Costello, 2006). Además existe la posibilidad de que los piojos de mar puedan transmitir enfermedades bacterianas y virales (Costello, 2006).

Esta enfermedad produce pérdidas económicas derivadas de la mortalidad directa, mortalidad asociada a infecciones secundarias, disminución del crecimiento, pérdida del valor de la carcasa y costos derivados del tratamiento. Es así como las pérdidas asociadas a esta parasitosis fueron estimadas entre los US\$ 0,18 y US\$ 0,45 por Kg. de salmón producido en Escocia; entre US\$ 0,08 y US\$ 0,11 por Kg. de salmón producido en la región de New Brunswick en Canadá (Johnson *et al.*, 2004). Mientras que en Chile las pérdidas se estimaron en torno a los US\$ 0,3 por Kg. de salmón producido (Carvajal *et al.*, 1998).

Hasta el año 2007 el único tratamiento para el control de esta parasitosis permitido por la autoridad sanitaria, era el benzoato de emamectina administrado en forma oral con el alimento (Hamilton-West *et al.*, 2008). Este fármaco pertenece al grupo de las avermectinas y su mecanismo de acción consiste en unirse a los canales de cloro mediados por glutamato, aumentando la permeabilidad al ión cloruro a nivel de las sinapsis inhibitorias de los invertebrados, resultando en parálisis flácida y muerte (Stone, *et al.*, 1999). A partir de ese mismo año se aprobó el uso de baños con peróxido de hidrógeno

en los casos que hubieran altos niveles de infestación (Hamilton-West *et al.*, 2008). El mecanismo de acción propuesto para este producto consiste en la formación de burbujas en el hemocele de los parásitos, y sus efectos son la remoción de los estadíos adultos de *C. rogercresseyi*, la muerte de los estadíos planctónicos, el retraso en el desarrollo de los estadíos chalimus, y la disminución de la proporción de huevos que eclosionan (McAndrew *et al.*, 1998).

En Chile, debido al establecimiento por parte de la industria de umbrales de tratamiento con cargas parasitarias de 5 o más parásitos por pez, y a la disponibilidad de tratamientos efectivos, hasta el año 2004 hubo pocas instancias donde la infestación resultó en mortalidad y pérdidas de crecimiento (Rozas y Asencio, 2007). Es así como a partir de los datos originados por el “Programa de Monitoreo del Piojo de Mar” del Instituto Tecnológico del Salmón (INTESAL), se observa que para el periodo 1999-2002 la carga parasitaria media de *C. rogercresseyi* era de 3,38 parásitos adultos por pez (Zagmutt-Vergara *et al.*, 2005). Sin embargo, los resultados de este programa de monitoreo han mostrado para el periodo 2004-2007 un aumento en el número de jaulas positivas y en la carga parasitaria media (Hamilton-West *et al.*, 2008). En el año 2004 se reportaron cargas medias, incluyendo a adultos y juveniles de 5, 10 y 3 parásitos por pez para trucha arco iris, salmón del Atlántico y coho, respectivamente. Pero a comienzos de 2007, los niveles de carga parasitaria media eran de 20, 34 y 29 parásitos totales por pez para las mismas especies de salmónidos (Rozas y Asencio, 2007). Además, a partir de la información recopilada por el Programa de Vigilancia Oficial de SERNAPESCA en el mes de agosto de 2007, se observa una prevalencia a nivel de centros de cultivo de 76,7%, y una carga parasitaria media de 11,8 parásitos por pez para todas las especies, con 13,9, 13,8 y 1,4 parásitos por pez para trucha Arco iris, salmón del Atlántico y coho, respectivamente (Hamilton-West *et al.*, 2008).

Una de las posibles causas de esta situación de empeoramiento de la caligidosis se atribuye a la pérdida gradual de eficacia del benzoato de emamectina, única droga disponible y registrada en Chile hasta el 2007, probablemente relacionada con la carencia de drogas complementarias para el tratamiento alternado de la enfermedad, lo que pudiera haber generado algún grado de resistencia del parásito a esta droga, producto de la selección de

poblaciones de individuos resistentes (Rozas y Asencio, 2007). En este sentido, los resultados de un estudio de sensibilidad *in vitro* realizado por Bravo *et al.* (2008), sugieren el desarrollo de resistencia por parte de *C. rogercresseyi* frente a este droga.

Se han descrito una serie de variables que estarían asociadas a diferencias en los niveles de carga y/o sobrevivencia de estos parásitos en salmónidos de cultivo. Entre éstas se puede mencionar: a) salinidad del agua, la cual afecta la sobrevivencia de los estados larvales (nauplius y copepoditos), los cuales mueren con niveles iguales o inferiores 20‰ (González y Carvajal, 2003); b) especie hospedera, siendo las especies más susceptibles la trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) y el salmón del Atlántico (*Salmo salar*), mientras que el salmón coho (*Oncorhynchus kisutch*) es el más resistente (González y Carvajal, 2003; Zagmutt-Vergara *et al.*, 2005; Hamilton-West *et al.*, 2008); c) temperatura del agua, que afecta el tiempo de desarrollo de los parásitos (González y Carvajal, 2003; Zagmutt-Vergara *et al.*, 2005); d) peso del hospedero, observándose mayores cargas medias en los peces más grandes (Tucker *et al.*, 2002; Zagmutt-Vergara *et al.*, 2005); e) tratamiento utilizado en el control del piojo de mar, siendo el benzoato de emamectina el producto que se asocia a las cargas más bajas de parásitos (Zagmutt-Vergara *et al.*, 2005), f) utilización de luz artificial en las jaulas, la cual se ha visto, en estudios realizados en *Lepeophtheirus salmonis* (la especie calígida predominante en el hemisferio norte) asociada a mayores cargas parasitarias en salmón del Atlántico (Hevrøy *et al.*, 2003).

El propósito del presente estudio es examinar las variables de manejo y ambientales previamente mencionadas, basándose en la información generada por SERNAPESCA a través de su Programa de Vigilancia Oficial de la Caligidosis en el mes de agosto de 2007, con el objeto de identificar si es que ellas presentan alguna asociación con los niveles registrados de carga parasitaria de *C. rogercresseyi* en especies salmonídeas cultivadas en el sur de Chile, para así poder planificar y evaluar posibles estrategias de control para esta parasitosis.

3. OBJETIVOS

I. OBJETIVO GENERAL

Evaluación epidemiológica de los factores de riesgo para los niveles de caligidosis en salmónidos cultivados en las regiones X y XI del sur de Chile.

II. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Describir y analizar la importancia de factores de riesgo ambientales y de manejo relacionados con los niveles de caligidosis en salmónidos de cultivo en las regiones X y XI del sur de Chile
- Realizar propuestas para la adecuación del Programa de Vigilancia y Control de *C. rogercresseyi* en salmónidos cultivados en las regiones X y XI del sur de Chile

4. MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio se desarrolló a partir de la información generada en el programa de vigilancia oficial de SERNAPESCA, en su etapa de diagnóstico general por jaula anual (DGJA) realizado en el mes de agosto de 2007, en las regiones X y XI. El DGJA consistió en el muestreo aleatorio de 10 peces de cada jaula de todos los centros de cultivo en actividad, el cual debe ser repetido anualmente (Chile. SERNAPESCA, 2007). Sin embargo, por ser la primera vez que se realizaba, este fue un procedimiento voluntario, en el cual se obtuvieron datos de 323 centros de cultivo que incluyeron 5681 jaulas.

El procedimiento de muestreo consistió en extraer 10 peces de cada jaula (individualmente o en grupos de 5 peces) mediante una red, para ser trasladados luego a un baño anestésico. Una vez anestesiados, los peces fueron tomados y se procedió a contar el número de parásitos, contando primero el número de hembras ovígeras y después a los adultos móviles. Luego se procedió a contar los parásitos sueltos en el baño, dividiendo su número por el total de peces expuestos al baño. Los juveniles fueron contados ayudándose del tacto en el caso de los estadíos más pequeños. Finalmente se puso a los peces en un baño de recuperación para ser devueltos posteriormente a la jaula (Chile. SERNAPESCA, 2007). La unidad epidemiológica de interés para el presente estudio fue la jaula. A partir de los datos generados en el muestreo se obtuvo la carga media de parásitos totales por pez por jaula, la cual se consiguió al sumar la carga de hembras ovígeras, adultos móviles y juveniles de cada pez, y luego promediarlas por los 10 peces muestreados en cada jaula.

Además del conteo de parásitos a nivel de peces, en el DGJA se recolectaron datos acerca de variables ambientales y de manejo, tanto a nivel de jaula como de centro (Tabla N° 1).

Toda esta información fue compilada y manejada utilizando planillas de Microsoft Excel 2003, asignándole a cada jaula y centro un código de identificación único. Se eliminaron todos aquellos registros en los que había algún dato faltante en cualquier categoría. En el caso de las variables continuas, se realizaron análisis estadísticos descriptivos e histogramas para determinar la existencia de errores en los registros.

A partir de la variable tratamiento se generaron tres nuevas variables, de acuerdo al momento de aplicación del mismo con respecto al muestreo: “tratamiento un mes antes”, “tratamiento dos meses antes” y “tratamiento tres meses antes” del muestreo, pudiendo ser el producto aplicado benzoato de emamectina oral, o baños con peróxido de hidrógeno (Tabla N° 2).

Tabla N° 1. Variables registradas en el DGJA de agosto de 2007

VARIABLES MEDIDAS A NIVEL DE JAULA:

- Especie cultivada en la jaula pudiendo ser salmón coho, del Atlántico o trucha arco iris
- Peso promedio de los peces de la jaula, expresado en Kg.
- Densidad de peces en la jaula, expresada en Kg./m³
- Fecha de inicio del último tratamiento aplicado a la jaula
- Fecha de término del último tratamiento aplicado a la jaula
- Producto aplicado, pudiendo ser benzoato de emamectina oral o baños con peróxido de hidrógeno
- Si la jaula aplica sistema de manejo del fotoperiodo

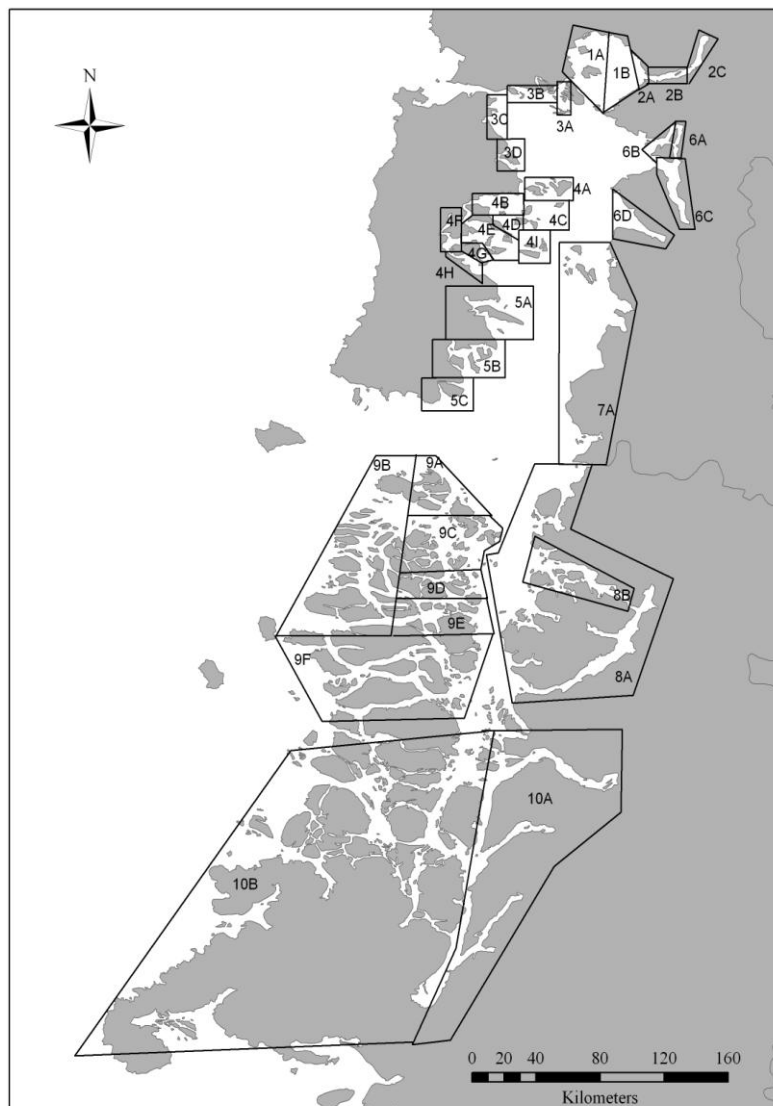
VARIABLES MEDIDAS A NIVEL DE CENTRO DE CULTIVO:

- Zona y sub-zona productivo-ambiental: según la definición de zonas realizada por INTESAL, en la que dentro de las regiones X y XI, considera la existencia de 10 zonas definidas de acuerdo a características productivo-ambientales similares, existiendo sub-zonas dentro de cada zona, las que alcanzan un total de 36 (Casas-Cordero *et al.*, 2004) (figura N° 1)
- Temperatura promedio del agua (medida en grados Celsius a tres metros de profundidad)
- Salinidad promedio de agua (medida en ‰ a tres metros de profundidad)

Tabla N° 2. Categorización de la variable tratamiento

Momento del tratamiento desde el muestreo	Niveles
<ul style="list-style-type: none"> • Tratamiento un mes antes 	<ul style="list-style-type: none"> • Sin tratamiento • Peróxido de hidrógeno • Benzoato de emamectina
<ul style="list-style-type: none"> • Tratamiento dos meses antes 	<ul style="list-style-type: none"> • Sin tratamiento • Peróxido de hidrógeno • Benzoato de emamectina
<ul style="list-style-type: none"> • Tratamiento tres meses antes 	<ul style="list-style-type: none"> • Sin tratamiento • Peróxido de hidrógeno • Benzoato de emamectina

Figura N° 1: Zonas productivo-ambientales en las regiones X y XI según definición de INTESAL



1: Zona del Seno de Reloncaví; Subzonas de 1A: Guar y 1B: Quillaípe. **/2: Zona del Estuario de Reloncaví;** Subzonas de 2A: Boca estuario, 2B: Marimelli y 2C: Cochamó. **/3: Zona de Chiloé norte;** Subzonas de 3A: Calbuco, 3B: Colaco, 3C: Manao y 3D: Quemchi. **/4: Zona Chiloé centro;** Subzonas de 4A: Butachauques, 4B: Lin lin, 4C: Quenac, 4D: Quinchao, 4E: Aguantao, 4F: Castro, 4G: Apabón, 4H: Yal y 4I: Apiao. **/5: Zona de Chiloé sur;** 5A: Subzonas de Compu, 5B: Quellón y 5C: San Pedro. **/6: Zona de Hornopirén;** Subzonas de 6A: Cholgo, 6B: Hornopirén, 6C: Fiordo Comau y 6D: Reñihue. **/7: Zona de Chaitén;** 7A: Subzona de Chaitén. **/8: Zona de Puerto Cisnes;** Subzonas de 8A: Cisnes y 8B: Canal Jacaf. **/9: Zona de Melinka;** Subzonas de 9A: Melinka, 9B: Chaffers, 9C: Verdugo, 9D: García, 9E: Garrao y 9F: Jorge. **/10: Zona de Aysén;** Subzonas de 10A: Aysén estuarino y 10B: Aysén oceánico. Tomado de Hamilton-West *et al.*, 2008.

La carga parasitaria media fue transformada mediante la aplicación de logaritmo natural, $\ln(\text{carga media} + 0,1)$, para lograr una mejor aproximación a la normalidad de los residuos, por lo que todos los resultados obtenidos a partir de los distintos análisis realizados deben entenderse con respecto a la variable transformada.

El análisis de los datos se realizó utilizando un modelo lineal de efectos mixtos (LME), el cual toma en cuenta la naturaleza anidada de los datos, en los que existen jaulas anidadas dentro de centros, los cuales están anidados dentro de subzonas y subzonas anidadas dentro zonas productivo-ambientales. Estos modelos, también conocidos como modelos de componentes de varianza, permiten descomponer la varianza de un conjunto de datos en una suma de varios componentes, a los cuales se les puede dar una interpretación útil (Dohoo *et al.*, 2003). Los modelos mixtos incorporan tanto efectos fijos como efectos aleatorios. Los primeros corresponden a parámetros o efectos asociados con una población entera o con ciertos niveles repetibles de factores experimentales, mientras que los segundos corresponden a efectos asociados a unidades experimentales individuales seleccionadas aleatoriamente desde la población, o que producen un efecto aleatorio debido a que la variable respuesta depende de condiciones ambientales que no son predecibles, y que por lo tanto no pueden ser reproducidas por el investigador (Pinheiro y Bates, 2000; Di Rienzo *et al.*, 2008).

Los efectos fijos considerados en este estudio fueron la temperatura y salinidad del agua, uso del fotoperiodo en los centros de mar, peso promedio de los peces, densidad de cultivo, especie cultivada, tratamientos aplicados hasta tres meses atrás, y la zona productivo-ambiental. Aquellos correspondientes a variables categóricas (como la zona, por ejemplo) fueron ingresados al modelo como variables auxiliares (variables indicadoras o dummy), dejando uno de sus niveles como referencia. Por lo que los coeficientes de regresión de los distintos niveles de una variable categórica deben interpretarse con respecto a ese nivel de referencia. Para ver posibles diferencias entre los niveles de una variable que no fueron comparados directamente entre si, se realizó la comparación de las medias ajustadas de los distintos niveles, utilizando la prueba de Di Rienzo, Guzmán y Casanoves (DGC) (Di Rienzo *et al.*, 2002), con un nivel de $p < 0,05$. Para las variables continuas (como el peso promedio, por

ejemplo), la interpretación de los coeficientes de regresión consiste en que por cada unidad de aumento de la variable independiente, la carga media transformada de parásitos aumenta (o disminuye) en el valor del coeficiente de regresión respectivo.

Los efectos aleatorios considerados fueron las subzonas productivo-ambientales, los centros de cultivo anidados dentro de la subzona, y el error o efecto jaula. El modelo propuesto para explicar la carga parasitaria media es el siguiente:

$$Y_{klm} = \beta_0 + \beta_n + b_k + b_{l(k)} + \varepsilon_{m(kl)}$$

En que Y_{klm} es la carga media de parásitos transformada por pez en la jaula m-ésima, β_0 es el intercepto, β_n es el vector de los efectos fijos, b_k es el efecto aleatorio de la subzona k-ésima, $b_{l(k)}$ es el efecto aleatorio del centro l-ésimo anidado dentro de la subzona k-ésima y $\varepsilon_{m(kl)}$ es el error o el efecto de la jaula m-ésima anidada dentro del centro l-ésimo dentro de la subzona k-ésima. El modelo asume que los efectos aleatorios y los errores en cada nivel de anidamiento son independientes y siguen una distribución similar a la normal con una media igual a cero y varianza, σ^2 . Los distintos modelos fueron ajustados utilizando estimaciones de máxima verosimilitud restringida (REML). En la práctica los efectos fijos representan la contribución a la carga media de parásitos de cada variable incluida en el modelo a través de la población de jaulas muestreadas, y los efectos aleatorios representan la contribución a la variabilidad de la carga media hecha en cada nivel de anidamiento, la cual no está explicada por los efectos fijos del modelo (Zagmutt-Vergara *et al.*, 2005). De esta manera el efecto de la subzona b_k , representa la variabilidad entre subzonas no explicada por los efectos fijos incluidos en el modelo; el efecto del centro de cultivo dentro de la subzona $b_{l(k)}$, representa la variabilidad no explicada entre centros dentro de una subzona; y el error o efecto jaula $\varepsilon_{m(kl)}$, representa la variabilidad no explicada entre jaulas dentro un centro dentro de una subzona.

A partir del modelo inicial, se seleccionaron los efectos fijos utilizando pruebas de F parciales, eliminando aquellas variables cuyos coeficientes de regresión no fueran significativos (probabilidad de $p > 0,05$). La estrategia de selección

fue a través del procedimiento de “Backward elimination”, en el cual se ajusta un modelo completo, con todos los efectos fijos, y estos son removidos secuencialmente de acuerdo al criterio de eliminación, ajustando el modelo resultante después de cada remoción de una variable, hasta que ninguno de los términos restantes en el modelo tienen un coeficiente de regresión con un valor de $p > 0,05$. Además se retuvieron en el modelo aquellas variables potencialmente confundidoras, las cuales al ser removidas produjeron un cambio importante (20% ó más) en el coeficiente de regresión de alguna de las variables del modelo (Dohoo *et al.*, 2003).

5. RESULTADOS

Se obtuvieron datos de 270 centros con un total de 4282 jaulas, lo cual representa alrededor del 50% de los centros de cultivo de salmónidos activos en ese momento en el país. La principal causa de eliminación de datos fue la falta de registro en alguna de las variables de interés (1281 jaulas), también se eliminaron datos debido a errores de registro (118 jaulas). De las 36 subzonas definidas, hubo una que quedó fuera del estudio, la subzona de Colaco, en la zona de Chiloé norte, por estar bajo un periodo de descanso, sin centros de cultivo en actividad.

La Tabla N° 3 muestra los efectos fijos retenidos en el modelo final. De estos, los que presentaron una asociación significativa con la carga media de *C. rogercresseyi* son: la zona productivo-ambiental, la especie cultivada, el tratamiento un mes antes del muestreo, la densidad de cultivo, el peso de los peces y la salinidad del agua. La temperatura del agua fue retenida en el modelo a pesar de no presentar una asociación significativa con la carga media, debido a su efecto confundidor sobre el efecto de las zonas. La tabla N° 4 muestra la estadística descriptiva de dicha variable.

Tabla N° 3. Efectos fijos retenidos en el modelo final y estadísticos asociados

	numDF	denDF	F-value	p-value
(Intercepto)	1	3935	2,84	0,0922
Zona	9	26	4,06	0,0024
Especie	2	3935	362,20	<0,0001
Tto.1.mes	2	3935	20,69	<0,0001
Salinidad	1	3935	63,85	<0,0001
Peso	1	3935	40,75	<0,0001
Densidad	1	3935	6,06	0,0138
Temperatura	1	3935	2,76	0,0967

Tto.1.mes: Tratamiento un mes previo al muestreo

Tabla N° 4. Estadística descriptiva de la variable temperatura

Variable	n	Media	D.E.	Mín	Máx	P(05)	P(95)
Temperatura	4282	9,47	0,81	6,80	12,30	8,20	10,80

P(05): percentil 05; P(95): percentil 95

En la Tabla N° 5 se muestran los estimadores de los parámetros de los efectos fijos incluidos en el modelo. La forma de interpretar los coeficientes de regresión en el caso de las variables categóricas, usando a la variable zona como ejemplo, consiste en que los coeficientes representan el efecto de un nivel particular de la variable sobre la carga media transformada de parásitos, comparado con un nivel elegido como referencia, en este caso Chiloé sur, manteniéndose el resto de las variables constante. De esta manera se puede observar que de las zonas incluidas en el modelo, aquellas que presentaron una asociación significativa con la carga media de parásitos fueron las zonas de Melinka ($p = 0,03$), Puerto Cisnes ($p = 0,04$) y Puerto Aysén ($p = 0,03$), presentando estas tres zonas cargas medias transformadas de parásitos de 1,21, 1,38 y 1,41 unidades menos que la zona de Chiloé sur, respectivamente. Al comparar las medias ajustadas de las distintas zonas, se comprueba el efecto negativo sobre la carga media de estas tres zonas, no observándose diferencias significativas entre ellas (Tabla N° 6).

Tabla N° 5. Estimadores y estadísticos asociados de los parámetros de los efectos fijos incluidos en el modelo final

	Value	Std.Error	DF	t-value	p-value
(Intercepto)	-2,04	1,21	3935	-1,68	0,0922
Zona_Chaitén	0,62	0,83	26	0,75	0,4602
Zona_Chiloé centro	0,35	0,49	26	0,72	0,4754
Zona_Chiloé norte	0,61	0,62	26	0,99	0,3324
Zona_Estuario de Reloncaví	0,07	0,58	26	0,12	0,9051
Zona_Hornopirén	0,70	0,60	26	1,16	0,2550
Zona_Melinka	-1,21	0,53	26	-2,30	0,0295
Zona_Puerto Aysén	-1,41	0,62	26	-2,28	0,0308
Zona_Puerto Cisnes	-1,38	0,64	26	-2,15	0,0413
Zona_Seno Reloncaví	1,19	0,67	26	1,76	0,0902
Especie_Salar	2,34	0,10	3935	24,18	<0,0001
Especie_Trucha	2,53	0,10	3935	24,82	<0,0001
Tto.1.mes_PH	-0,52	0,11	3935	-4,80	<0,0001
Tto.1.mes_BE	-0,24	0,05	3935	-4,97	<0,0001
Salinidad	0,11	0,01	3935	7,99	<0,0001
Peso	0,07	0,01	3935	6,38	<0,0001
Densidad	0,01	4,3E-03	3935	2,46	0,0138
Temperatura	-0,21	0,12	3935	-1,66	0,0967

*Tto.1.mes_PH: Tratado con peróxido de hidrógeno un mes antes del muestreo;
Tto.1.mes_BE: Tratado con benzoato de emamectina un mes antes del muestreo.
Negrilla: variable significativa.*

Tabla N° 6. Comparación de medias ajustadas entre las diferentes zonas

zona	Medias	E.E.	
Seno Reloncaví	2,50	0,53	A
Hornopirén	2,39	0,44	A
Chaitén	2,31	0,72	A
Chiloé norte	1,62	0,45	A
Chiloé centro	1,42	0,26	A
Estuario de Reloncaví	1,42	0,40	A
Chiloé sur	1,07	0,41	A
Melinka	-3,3E-03	0,34	B
Puerto Cisnes	-0,06	0,50	B
Puerto Aysén	-0,09	0,46	B

Letras distintas indican diferencias significativas (p<= 0,05)

En cuanto a la especie cultivada, tomando al salmón coho como referencia, se observa que las especies asociadas a las mayores cargas son la trucha arco iris y el salmón del atlántico ($p < 0,0001$ para ambas), con cargas medias transformadas de 2,53 y 2,34 unidades más que el salmón coho, respectivamente, no observándose diferencias significativas entre ellas en la comparación de medias ajustadas (Tabla N° 7).

Tabla N° 7. Comparación de medias ajustadas entre las diferentes especies

Especie	Medias	E.E.	
Trucha	1,79	0,15	A
Salar	1,68	0,15	A
Coho	-0,67	0,16	B

Letras distintas indican diferencias significativas (p<= 0,05)

Para la variable tratamiento, donde la categoría de referencia son los peces no tratados, sólo el tratamiento aplicado un mes antes del muestreo demostró tener una asociación significativa con la carga media de parásitos, mostrando coeficientes negativos tanto para los baños con peróxido de hidrógeno como para el benzoato de emamectina oral ($p < 0,0001$ para ambas categorías), con valores de los coeficientes de regresión de 0,52 y 0,24 unidades menos que los peces no tratados, respectivamente. Al comparar los tratamientos un mes antes entre sí, a través de las medias ajustadas de los grupos, se observa un resultado paradójico, en el sentido de que las medias de los grupos de jaulas tratadas son significativamente mayores que la del grupo de jaulas no tratadas,

y que los baños con peróxido de hidrógeno se asocian a mayores cargas medias que el tratamiento con benzoato de emamectina (Tabla N° 8).

Tabla N° 8. Comparación de medias ajustadas entre tratamientos realizados un mes antes del muestreo

Tto.1.mes	Medias	E.E.	
PH	1,77	0,20	A
BE	1,33	0,14	B
S/Tto	1,06	0,14	C

Tto.1.mes: Tratamiento realizado un mes antes del muestreo; PH: peróxido de hidrógeno; BE: benzoato de emamectina; S/Tto: sin tratamiento en el periodo. Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$)

La causa de estos resultados está dada fundamentalmente por el hecho de que en general se realiza tratamiento en aquellos casos en los que hay jaulas con un problema de cargas parasitarias elevadas (mayores a 5 parásitos / pez) (Rozas y Asencio, 2007), mientras que cuando las cargas parasitarias son bajas en general no se aplica ningún tratamiento. En el caso particular de las jaulas tratadas con peróxido de hidrógeno, el hecho de que la media de este grupo sea la más alta se asocia justamente con el hecho de que los baños con este producto se autorizan en aquellos casos de alta infestación parasitaria (Hamilton-West *et al.*, 2008). Esto se puede corroborar al examinar las medias de los distintos grupos de tratamientos (Tabla N° 9). Por lo que se puede inferir que los tratamientos realizados un mes atrás disminuyen el nivel de carga parasitaria, pero esta reducción no es la suficiente para revertir la situación inicial de mayores cargas que en los peces no tratados.

Tabla N° 9. Estadística descriptiva de la carga parasitaria para los distintos tratamientos

Tto.1.mes	n	Media	Mediana	Q1	Q3
PH	131	21,33	14,60	7,20	29,60
BE	1791	11,67	6,50	2,00	16,30
S/Tto	2360	9,18	3,00	0,30	10,80

Tto.1.mes: Tratamiento realizado un mes antes del muestreo; PH: peróxido de hidrógeno; BE: benzoato de emamectina; S/Tto: sin tratamiento en el periodo; Q1: primer cuartil; Q3: tercer cuartil

Al realizar la comparación de los coeficientes de regresión de los tratamientos a través de una prueba de contrastes basada en la distribución de F (Tabla N° 10), se observa que la diferencia entre ambos es significativa, por lo que se puede considerar que el tratamiento con peróxido de hidrógeno aparece como más efectivo en la reducción de la carga media de parásitos.

Tabla N° 10. Comparación de los coeficientes de regresión para la variable “tratamiento un mes atrás” a través de la prueba de contrastes

Tto.1.mes	F	gl (num)	gl (den)	p-value
Contraste	8,49	1	3935	0,0036
Total	8,49	1	3935	0,0036

Tto.1.mes: Tratamiento un mes previo al muestreo

En el caso de la variable densidad de cultivo, esta se asocia ($p = 0,01$) a mayores niveles de carga parasitaria media, con un coeficiente de regresión de 0,01. El resto de las variables continuas, peso promedio de los peces y salinidad del agua también demostraron estar asociadas (ambas con valores de $p < 0,0001$) a mayores cargas parasitarias medias, con coeficientes de regresión de 0,07 y 0,11 respectivamente.

La tabla N° 11 muestra los estimadores de los efectos aleatorios y sus intervalos de confianza (IC) al 95%, los cuales en todos los casos resultaron ser significativos (el IC no incluyó al cero), lo que significa que en estos niveles jerárquicos existe variabilidad significativa no explicada por los efectos fijos del modelo final. En la tabla N° 12 se presenta la distribución de la varianza en los distintos niveles de anidamiento, observándose que la mayor variabilidad se da a nivel de centros de cultivo.

Tabla N° 11. Estimadores de los efectos aleatorios e intervalos de confianza al 95%

Efecto aleatorio	LI (95%)	SD	LS (95%)
Subzona	0,33	0,55	0,94
Centro	1,15	1,26	1,39
Error (efecto jaula)	0,58	0,59	0,60

*LI(95%): límite inferior del intervalo de confianza al 95%;
 LS(95%): límite superior del intervalo de confianza al 95%;
 SD: desviación estándar*

Tabla N° 12. Distribución de la varianza de los distintos efectos aleatorios

Efecto aleatorio	Valor	% Varianza
σ^2 Subzona	0,30	13,39
σ^2 Centro	1,59	70,98
σ^2 Error	0,35	15,63
σ^2 Total	2,24	-

En cuanto a la validez del modelo, el gráfico Q-Q de la figura N° 2 muestra que este cumple satisfactoriamente el supuesto de normalidad de los residuos. Este supuesto se cumple en todos los niveles jerárquicos del modelo.

En la figura N° 3 se observa que el ajuste del modelo es bajo, lo que se evidencia por la dispersión de los valores observados con respecto a los predichos a partir del modelo.

Figura N° 2. Gráfico Q-Q, mostrando el ajuste de los residuos a la distribución normal

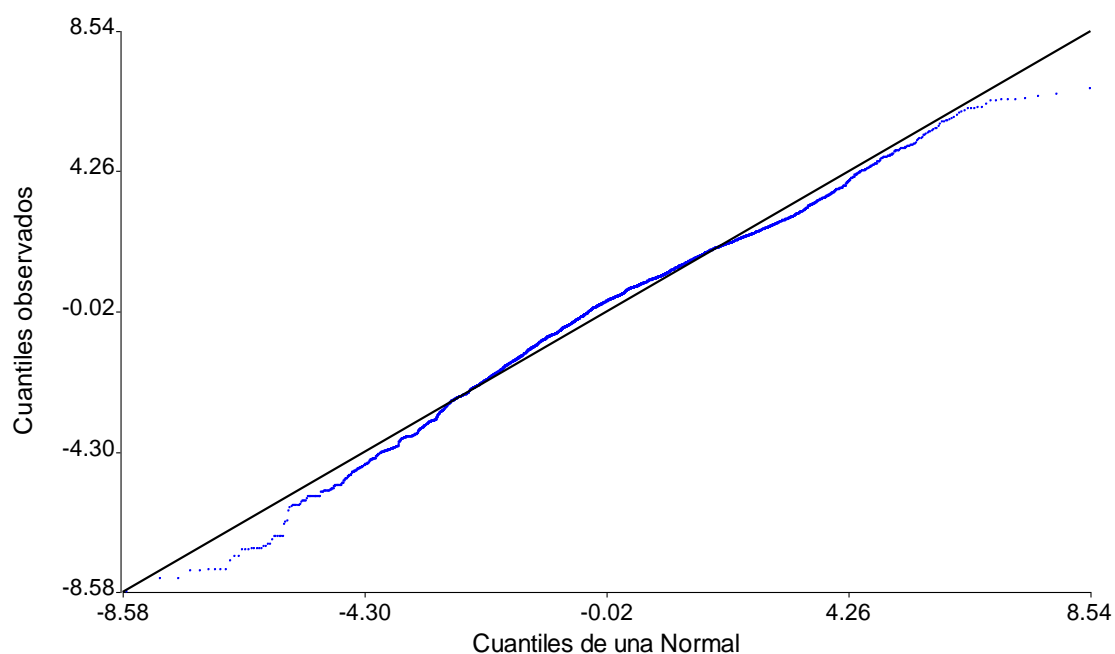
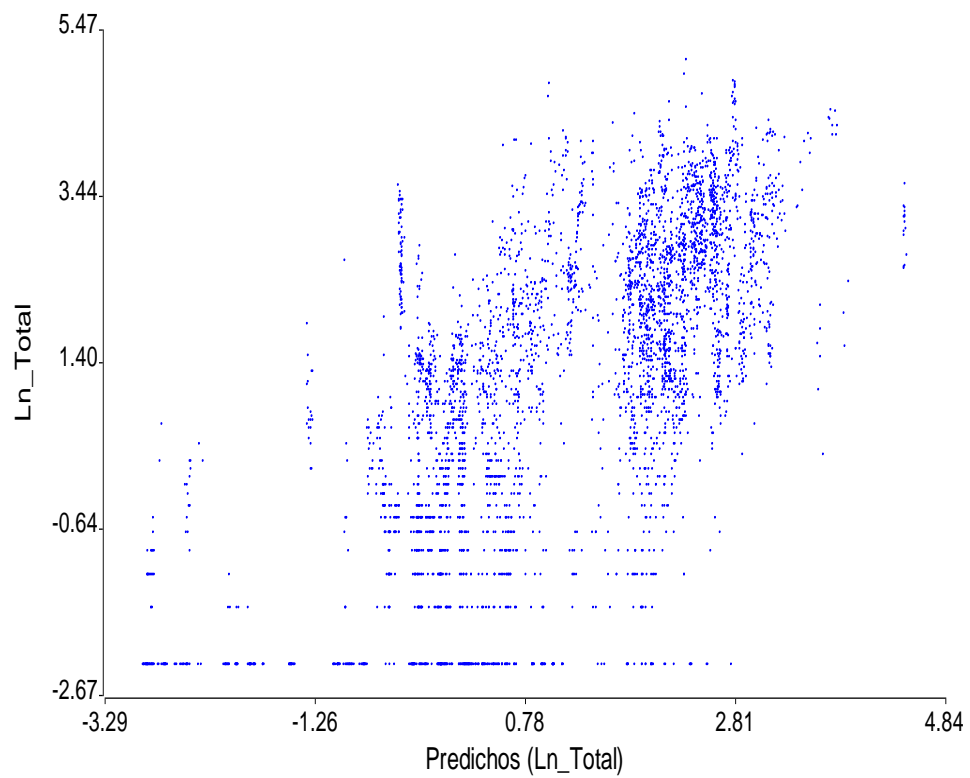


Figura N° 3. Gráfico de dispersión entre valores predichos y observados de la carga parasitaria media transformada



6. DISCUSIÓN

En el análisis de los efectos fijos, el hecho de que el efecto de la zona productivo-ambiental haya resultado significativo coincide con la observación común entre los productores de que las infestaciones con piojo de mar se agrupan en áreas particulares (espacialmente). Pudiendo también agruparse en determinadas épocas del año (temporalmente), o incluso en áreas y épocas del año determinadas (espacial y temporalmente) (Saksida *et al.*, 2007; Zagmutt-Vergara *et al.*, 2005). A partir de los resultados del modelo utilizado se pueden distinguir dos grupos de zonas: uno ubicado en la X, y otro en la XI región. El primero corresponde al grupo de zonas ubicadas al norte de la Boca del Guafo, las cuales están asociadas a mayores niveles de infestación parasitaria y que incluye a las zonas de Chiloé norte, centro y sur, Seno y Estuario de Reloncaví, Hornopirén y Chaitén, no presentando diferencias significativas entre ellas. El segundo corresponde al grupo de zonas ubicadas al sur de la Boca del Guafo, las cuales se asocian a menores niveles de infestación, estando formado por las zonas de Melinka, Puerto Cisnes y Puerto Aysén, las que tampoco presentan diferencias significativas entre si.

Se han sugerido una serie de factores asociados con la ubicación de los centros de cultivo que pueden ser importantes en la infestación con el piojo de mar en salmónidos, tales como la profundidad de las aguas, régimen de mareas, patrones de circulación de las aguas, caudal, temperatura y salinidad (Johnson *et al.*, 2004), estando los dos últimos incluidos en este estudio. En *Lepeophtheirus salmonis* se han encontrado asociaciones significativas del nivel de infestación de los peces con la velocidad de las corrientes y con el tiempo de recambio de los cuerpos de agua (Revie *et al.*, 2003). Otro factor que podría estar asociado con las diferencias observadas entre regiones es la distancia entre centros de cultivo. Se ha estimado que los estadíos larvarios de *L. salmonis* pueden dispersarse, en una gradiente de concentración dependiente de las corrientes y de los vientos predominantes, una distancia promedio de 27 Km. en 5 a 15 días. En Noruega se ha observado que aquellos centros separados por más de 10 Km., al parecer presentarían una menor intensidad de infestación (Costello, 2006).

De este modo, las diferencias observadas entre las regiones X y XI pueden ser producto de diferencias en la agregación de los centros de cultivo y de la ubicación geográfica de los mismos, asociada esta última a factores de tipo oceanográfico como los mencionados previamente. La agregación hace referencia al hecho de que los centros de cultivo presentan una distribución que tiende a ser heterogénea y de tipo agregada a lo largo de la macrozona de cultivo de salmónidos en las regiones X y XI, ubicándose la mayoría de ellos en áreas protegidas y próximos a puertos o centros de servicios, procurando una relativa proximidad a centros urbanos. Así, la distribución de los centros se concentra en la X región, ubicándose principalmente en las provincias de Chiloé (zonas de Chiloé norte, centro y sur) y Llanquihue (zonas del Seno y Estuario de Reloncaví) (Casas-Cordero *et al.*, 2004), estando en un menor número en la provincia de Palena (Zonas de Hornopirén y Chaitén). De los centros que informaron en el DGJA de 2007, y cuyos datos fueron incorporados en este estudio, alrededor del 69% (186 centros) se ubicaban en la X región, en las provincias de Chiloé (121 centros), Llanquihue (39 centros) y Palena (26 centros), mientras que el restante 31% (84 centros) se ubicaban en la XI región en la provincia de Aysén (zonas de Melinka, Puerto Cisnes y Puerto Aysén).

En cuanto a las características oceanográficas que afectan a las distintas zonas, se puede mencionar que la renovación de las masas de agua en la macrozona de cultivo de las regiones X y XI se produce a partir del flujo hacia el océano de aguas superficiales estuarinas y de la penetración de aguas más profundas desde masas oceánicas a través de la Boca del Guafo y de pasos oceánicos como los canales existentes en el archipiélago de los Chonos, distribuyéndose como agua de fondo y llenando las cuencas del Golfo de Corcovado, los canales Moraleda, Jacaf, Puyuhuapi y Seno Ventisquero (Figura N° 4). A pesar lo anterior, el área del Golfo de Ancud, al norte del Golfo de Corcovado, presenta una limitación en su recambio de aguas, producto de la constricción existente en el Canal Apiao y las Islas Desertores, la cual impide el libre paso de las aguas oceánicas. Además de esta constricción, que divide a los golfos de Ancud y Corcovado, existe otra correspondiente a Meninea, en el Canal de Moraleda. Ambas constricciones actúan como barreras impidiendo el libre paso de las aguas hacia el norte o el sur, respectivamente (Casas-Cordero *et al.*, 2004).

De esta manera, el hecho de que los centros ubicados en la X región estén asociados a mayores niveles de infestación parasitaria puede estar explicado en parte por la alta concentración de centros y, en el caso de aquellos centros ubicados al norte de la constricción de Apiao-Desertores (zonas de Chiloé centro y norte, Seno y Estuario de Reloncaví y Hornopirén), también puede estar explicado por el bajo recambio de las aguas, el cual podría favorecer la presencia de una mayor cantidad de estadíos infectantes del piojo de mar. Mientras que la asociación a menores niveles de infestación de aquellos centros ubicados en la XI región podría estar explicado por la menor concentración de centros y, en el caso de aquellos centros ubicados al norte de la constricción de Meninea también puede estar explicado por un mayor recambio de sus masas de agua. Todo lo descrito anteriormente coincide con la observación de que la adecuada selección de la ubicación de las instalaciones de los centros de cultivo puede reducir el número de estadíos infectantes que son transportados o retenidos en el ambiente (Johnson *et al.*, 2004), y que por lo tanto este es un factor de riesgo a considerar a la hora de definir la ubicación de los centros de cultivo.

Figura N° 4. Mapa de las cuencas y pasos oceánicos de las regiones X y XI de Chile



A: Boca del Guafo; **B:** Archipiélago de los Chonos; **C:** Golfo de Corcovado; **D:** Canal de Moraleda; **E:** Canal de Jacaf; **F:** Canal de Puyuhuapi; **G:** Seno Ventisquero; **H:** Golfo de Ancud; **I:** Canal de Apiao; **J:** Islas Desertores; **K:** Meninea.

En cuanto a la especie cultivada, se ha descrito que las especies hospederas difieren en su susceptibilidad a la infección con el piojo de mar. En el caso de *L. salmonis* ha sido propuesto que el salmón del Atlántico es la especie más susceptible al compararla con la trucha arco iris, la cual presenta un nivel intermedio de susceptibilidad, y el salmón coho, siendo esta última la especie más resistente (Fast *et al.*, 2002). La mayor resistencia del salmón coho ha sido atribuida a una mayor respuesta frente a la presencia del parásito, caracterizada por el desarrollo de hiperplasia epitelial y una reacción inflamatoria inespecífica, las cuales se presentan en un nivel intermedio en trucha arco iris y en forma mínima en salmón del Atlántico (Wagner *et al.*, 2007; Fast *et al.* 2002; Johnson y Albright 1992a).

En el caso de *C. rogercresseyi*, estudios previos describen al salmón coho como la especie más resistente, y a la trucha arco iris y el salmón del Atlántico como las más susceptibles, sugiriendo un nivel de susceptibilidad intermedio para este último (Pino-Marambio *et al.*, 2007; Zagmutt-Vergara *et al.*, 2005; González *et al.*, 2000; Carvajal *et al.*, 1998). Los resultados de este estudio también muestran al salmón coho como la especie más resistente a *C. rogercresseyi*, y al salmón del Atlántico y la trucha arco iris como las especies más susceptibles, no mostrando estas dos últimas diferencias significativas entre si. El hecho de que esta diferencia no sea significativa en el presente estudio, puede tener relación con el aumento progresivo en la abundancia del piojo de mar observada en salmón del Atlántico por miembros de la industria desde 2004, la cual en el año 2007 fue incluso superior a la de la trucha arco iris (Rozas y Asencio 2007), y/o con la mayor amplitud de este estudio con respecto a los estudios previos, tanto en el número de jaulas como en el tamaño del área de estudio. La resistencia del salmón coho frente a *C. rogercresseyi* observada en el presente estudio probablemente está relacionada a mecanismos inespecíficos de respuesta tisular, similares a los observados en la respuesta montada frente a *L. salmonis*. Otro factor que puede estar involucrado es la preferencia del piojo de mar por los distintos hospederos. En este sentido Pino-Marambio *et al.* (2007) describió que machos adultos de *C. rogercresseyi* muestran una conducta de evasión frente a agua acondicionada por salmón coho, mientras que frente a agua acondicionada por trucha arco iris y por salmón del Atlántico muestran una respuesta de atracción,

sugiriendo que estas diferencias están mediadas por señales químicas liberadas por las distintas especies de peces hospederos.

En general, el benzoato de emamectina administrado en el alimento es considerado como uno de los quimioterapéuticos más efectivos en el control del piojo de mar, debido a que afecta tanto a los estadíos juveniles como a los adultos de este parásito (Stone *et al.*, 1999, 2000). Estudios previos han descrito que el benzoato de emamectina reduce significativamente el número de *L. salmonis* a partir del séptimo día desde el inicio del tratamiento (Stone *et al.*, 1999), y que los niveles se mantienen bajos por hasta 64 días (Stone *et al.*, 2000). Gustafson *et al.* (2006) estimó que el máximo efecto de este fármaco era alcanzado entre las 1 y 8 semanas desde el inicio del tratamiento, y que la eficacia del producto se mantenía durante un periodo de 4 a 16 semanas. Un estudio de campo realizado en Chile mostró una duración de la efectividad frente a *Caligus spp.* de por lo menos 40 días, pudiendo llegar incluso hasta 96 días desde el inicio del tratamiento (Romero *et al.*, 1999). Por otro lado, los baños con peróxido de hidrógeno, al igual que otros productos aplicados en baños, tienen un espectro de acción más reducido, eliminando sólo a los individuos adultos sin remover a los estadíos inmaduros desde los peces. Como consecuencia, los estadíos inmaduros que sobreviven pueden alcanzar la etapa reproductiva, de tal manera que las poblaciones son constantemente regeneradas (McAndrew *et al.*, 1998; Treasurer y Grant, 1997). Los resultados del presente estudio muestran que sólo los tratamientos realizados un mes antes del muestreo se asocian en forma significativa a menores cargas medias de *C. rogercresseyi*, y que los realizados 2 y 3 meses antes no afectan significativamente los niveles de este parásito. Lo anterior sugiere que el efecto del tratamiento, ya sea con peróxido de hidrógeno o benzoato de emamectina, no supera al mes de duración. Esto coincide con los resultados de Zagmutt-Vergara *et al.* (2005), quien encontró que los tratamientos realizados 2 y 3 meses antes del muestreo no estaban asociados significativamente a menores cargas parasitarias, siendo efectivo en la reducción de los niveles de esta parasitosis sólo el tratamiento con benzoato de emamectina realizado un mes antes.

El hecho de que el benzoato de emamectina muestre efectividad sólo desde un mes antes del muestreo puede estar explicado en parte por el hecho de que en

el presente estudio, además de los tratamientos, se incorporan otras covariables que explican parte de la variabilidad observada, como por ejemplo el peso de los peces, la salinidad o la densidad de cultivo, entre otros. Otro factor que puede estar influyendo en la menor duración del efecto del benzoato de emamectina es el posible desarrollo de resistencia por parte del piojo de mar frente a este producto, la que estaría asociada a la falta de alternancia en su uso con otros principios activos, debido a que este fue el único tratamiento permitido por la autoridad sanitaria entre los años 2000 y 2007, lo que sumado a la falta de un programa de manejo integrado de esta parasitosis pudo haber llevado a la selección de poblaciones resistentes de este parásito. En este sentido, miembros de la industria han reportado una pérdida de efectividad de esta droga desde fines de 2005 (Bravo *et al.*, 2008; Rozas y Asencio, 2007). Bravo *et al.* (2008) realizó un estudio de sensibilidad *in vitro* de *C. rogercresseyi*, cuyos resultados sugieren una reducción de la sensibilidad de este parásito frente al benzoato de emamectina. Esta misma pérdida de sensibilidad puede estar relacionada con el menor desempeño observado de este producto frente a los baños con peróxido de hidrógeno.

Otro factor que puede explicar parte de este menor desempeño, es la posible persistencia de estadíos chalimus inviables en los peces tratados con benzoato de emamectina, lo cual ha sido reportado en ensayos en peces infectados con *L. salmonis*. Este fenómeno se produce debido a que la estructura de adhesión, el filamento frontal, no se destruye inmediatamente, pudiendo persistir parásitos muertos o inviables adheridos al cuerpo del pez, lo cual puede aumentar los conteos de piojo de mar en algunos casos (Stone *et al.*, 2000, 1999). Otros factores que pueden influir en la aparente menor efectividad del benzoato de emamectina es el uso de productos genéricos, el esquema terapéutico (dosis y periodo de administración) establecido por los veterinarios en los distintos centros de cultivo, así como también factores relacionados con los procesos de incorporación del principio activo en la elaboración de los alimentos medicados, como por ejemplo la concentración incorporada en cada grano (Hamilton-West, comunicación personal).

La densidad de cultivo es un factor importante que afecta el bienestar de los peces en la acuicultura, especialmente cuando las densidades elevadas apuntan a aumentar la productividad en ambientes confinados (Ashley, 2007).

Sin embargo, el efecto observado sobre el bienestar depende de la especie en consideración, pudiendo incluso ser beneficioso para algunas especies como la trucha ártica (*Salvelinus alpinus*), la cual crece más rápido y sufre menos daño físico a densidades elevadas (Jorgensen *et al.*, 1993). En el caso de la trucha arco iris existe evidencia considerable de que el bienestar de los peces disminuye frente a densidades elevadas, cuyos efectos incluyen disminución del crecimiento, reducción del consumo de alimento, de la eficiencia de conversión alimentaria y de la condición nutricional, erosión de las aletas, daño de las branquias y una reducción de la capacidad inmune (Ashley, 2007). En salmón del Atlántico, Turnbull *et al.* (2005), utilizando un índice de bienestar multivariado (que incluyó niveles de cortisol y glucosa en sangre, y la condición corporal y de las aletas), identificó que las densidades de cultivo elevadas se asocian con un menor bienestar de los peces a partir de un umbral de 22 Kg./m³. Estos efectos negativos de la densidad sobre el bienestar de los peces pueden estar explicando la asociación observada en este estudio entre la densidad de cultivo y el nivel de carga parasitaria. De esta manera se puede sugerir que aquellos peces sometidos a mayores densidades presentan un menor nivel de bienestar y, consecuentemente, un mayor nivel de estrés, el cual estimula la activación del eje Hipotálamo-Pituitaria-Interrenal (HPI), produciendo la liberación de cortisol, el cual aumentaría la susceptibilidad de los peces frente al piojo de mar. En este sentido, ha sido descrito que salmones coho con implantes de cortisol presentan una mayor susceptibilidad frente a *L. salmonis*, la cual estaría dada por una menor respuesta inmune innata (Johnson y Albright, 1992b).

Además, la densidad de cultivo podría influenciar el nivel de infestación a través de otros mecanismos. Por ejemplo, muchos parásitos acuáticos utilizan la quimiotaxis para localizar a sus hospederos potenciales, por lo que grupos de peces más grandes o densos pueden ser más fácilmente detectados por estos organismos que dependen de señales olfatorias liberadas desde sus hospederos para orientarse (Barber, 2007). En el caso de *C. rogercresseyi*, los resultados de Pino-Marambio *et al.* (2007) sugieren que la interacción parásito-hospedero esta mediada por señales químicas liberadas por las especies hospederas. Sin embargo, en ese estudio se utilizó agua acondicionada por peces individuales en el laboratorio, por lo que no se pueden sacar

conclusiones con respecto a una interacción entre las densidades de cultivo y la intensidad de las señales químicas liberadas por los peces. Otro posible mecanismo por el cual las mayores densidades pueden afectar la carga parasitaria, es la mayor proximidad espacial entre peces, la cual puede favorecer la transmisión directa de parásitos móviles entre hospederos (Barber, 2007). Sin embargo, esta forma de transmisión parece ser de poca importancia para el piojo de mar, debido a las características de su ciclo evolutivo, donde solo los adultos tienen la capacidad de desplazarse, y también debido a las condiciones de cultivo, donde en general no se mezclan distintas especies con distintos niveles de susceptibilidad, donde las formas móviles pueden pasar de las especies más a las menos susceptibles (González *et al.*, 2000). Esta forma de transmisión podría ser importante en la medida que los nauplius que eclosionen de los huevos de hembras ovígeras presentes en un pez se mantengan en el ambiente hasta alcanzar el estadio infectante de copepodito, situación que se podría dar en sitios ubicados en lugares con poca circulación de agua, y/o en jaulas con un nivel de fouling que permita mantener los copépodos en el ambiente.

El efecto del peso de los peces observado en el presente estudio coincide con los resultados de Zagmutt-Vergara *et al.* (2005), quien encontró una asociación significativa entre el peso de los peces y la carga de *C. rogercresseyi*. Esto está posiblemente relacionado con el mayor tiempo de exposición de los peces (edad de los peces) frente al parásito. En este sentido, Saksida *et al.* (2007) describe que la edad de los peces presenta un efecto significativo sobre el nivel de abundancia de *L. salmonis* encontrado en salmón del Atlántico. Otro factor que puede estar relacionado con el efecto del peso es la mayor superficie corporal que esta expuesta al parásito en los peces de mayor peso. Los resultados de estudios experimentales llevados a cabo por Tucker *et al.* (2002), muestran que los peces más grandes presentan un mayor número de *L. salmonis*, pero que cuando el nivel de infestación es expresado como número de parásitos por unidad de superficie (la cual fue estimada a partir del peso), las mayores intensidades ocurren en los peces más pequeños. El mismo autor sugiere que dicho efecto se debe a que los peces más pequeños son más susceptibles frente a este parásito. En el presente estudio la superficie

corporal de los peces no fue registrada, y por lo tanto, corroborar dichos resultados no fue posible.

La asociación de la salinidad con la carga parasitaria estaría explicada por su efecto en la sobrevivencia de los estadios larvarios nauplius y copepodito, los que son más susceptibles a aguas de baja salinidad, muriendo en niveles iguales o menores a 20 ‰ (González y Carvajal, 2003). La baja salinidad también podría disminuir la tasa de asentamiento y la velocidad de desarrollo de estos parásitos, como ha sido descrito en el caso de *L. salmonis* (Tucker *et al.* 2000). La temperatura resultó no ser significativa en el presente estudio, lo que coincide con los resultados de otros autores (Saksida *et al.*, 2007; Revie *et al.*, 2003). Sin embargo, esto puede también estar relacionado con la naturaleza del presente estudio, donde se recolectó la información en un punto específico en el tiempo (a mediados de invierno), lo que hizo que el rango de temperaturas fuera más bien bajo, con una media de 9,47° C y valores mínimos y máximos de 6,8° y 12,3° C, respectivamente, estando en el 90% de los casos entre 8,2° C y 10,8° C (Tabla N° 4). Esto impidió incluir el efecto de temperaturas más elevadas, las cuales se observan en los meses más cálidos del año y pueden llegar hasta alrededor de los 16° C (Casas-Cordero *et al.*, 2004). A pesar de lo anterior, debido a su efecto confundidor sobre la zona productivo-ambiental, debió ser incluida en el modelo final. Este efecto era de esperarse, debido a que en general las distintas zonas presentan diferentes temperaturas, observándose un gradiente descendente de norte a sur (Casas-Cordero *et al.*, 2004). El coeficiente negativo asociado a la variable, aunque no significativo, puede estar relacionado con el hecho de que los piojos de mar, al igual que otros crustáceos, viven y crecen más a temperaturas más bajas, y de que las hembras más grandes producen más huevos y de mayor tamaño. Los estadios larvarios que emergen de estos huevos tienen mayores reservas de alimento y por lo tanto podrían estar más tiempo en el plancton buscando un hospedero (Costello, 2006).

Todos los efectos aleatorios analizados resultaron ser significativos, lo que quiere decir que existen uno o más factores no considerados en el presente estudio que explicarían la variabilidad observada en la carga parasitaria media entre subzonas, centros y jaulas. La variación observada entre subzonas puede estar explicada por diferencias ambientales a este nivel, como por ejemplo diferencias en los patrones de circulación de agua, o en la distribución de las poblaciones de hospederos silvestres. Sin embargo, la variabilidad observada a este nivel fue más bien baja (13% de la varianza total) (Tabla N° 12), lo que indicaría que buena parte de la variación en la intensidad de infestación estaría dada por las variables incluidas en el modelo final, como son la salinidad del agua, la especie cultivada, el tratamiento realizado un mes atrás, la densidad de cultivo y el peso de los peces. Por lo tanto, las medidas para el control de *C. rogercresseyi* tomadas a este nivel debieran enfocarse en aquellos factores susceptibles de ser modificados por los productores, siendo el tratamiento que se realiza un mes antes y la densidad de cultivo los más fácilmente modificables. En el caso de la especie cultivada, al planificar la siembra de un centro debiera considerarse la siembra de salmón coho por sobre el del Atlántico o la trucha arco iris. Sin embargo, la decisión de qué especie cultivar también va a depender de criterios de tipo económico y comercial, entre otros.

La variabilidad entre centros resultó ser la mayor de todas (71% de la varianza total). Entre los posibles factores no considerados en este estudio y que podrían formar parte de dicha variabilidad, están las diferencias que se dan a nivel de manejos, en las condiciones oceanográficas locales, en el estatus sanitario de los centros, y diferencias genéticas entre las poblaciones de peces de las distintas empresas. Existe una gran variedad de manejos en la salmonicultura, muchos de los cuales conllevan un estrés asociado para los peces, como por ejemplo las vacunaciones inyectables, las cuales en general se realizan a nivel de centro de cultivo. Al considerar el efecto del cortisol en la mayor susceptibilidad frente a otras especies calígidias (Johnson y Albright, 1992b), es razonable pensar que este tipo de eventos puede llevar a un aumento en la susceptibilidad de los peces, y que por lo tanto, variaciones en la ocurrencia de estos pueden llevar a variaciones en los niveles de infestación entre centros. En cuanto a las condiciones oceanográficas de los centros,

pueden presentarse diferencias en el nivel de las corrientes que los afectan y en la distancia hasta el fondo marino de las jaulas, lo cual puede afectar la velocidad de dispersión y la retención de los estadíos infectantes del parásito en el medio. El estatus sanitario del centro hace referencia a la presencia de enfermedades bacterianas, virales o fúngicas que puedan estar afectando al centro de cultivo. Estas pueden actuar como agentes estresantes y debilitantes sobre los peces, disminuyendo su resistencia natural frente a esta parasitosis. De esta manera, se ha visto que peces moribundos parecen atraer más piojos de mar que los peces sanos, lo que estaría dado por la preferencia o selección del parásito debido a su menor resistencia (Bruno y Stone, 1990). Estudios previos han mostrado que diferentes familias de salmones pueden variar en su susceptibilidad frente a *L. salmonis* (Glover *et al.*, 2005), por lo que otra posible fuente de variación son las diferencias en las líneas genéticas entre y dentro de las empresas, las cuales en general manejan peces de diversas líneas e incluso utilizan líneas genéticas propias.

En cuanto a la variabilidad entre jaulas, esta resultó ser de una magnitud similar a la observada entre subzonas (16% de la varianza total). Este nivel de variabilidad era de esperarse, debido a que las jaulas dentro de un centro comparten un ambiente común, lo que permite un nivel similar de exposición a los estadíos infectantes del piojo de mar entre jaulas, y a que en general los distintos manejos realizados en un centro son uniformes para todas las jaulas. Entre las posibles causas de dicha variabilidad pueden estar enfermedades y eventos estresantes que afectan a jaulas particulares dentro de un centro, como tratamientos inyectables, ataques de lobos marinos y de aves, cambios de redes y desdobles. Otro factor que podría formar parte de la variabilidad observada, es la posición de la jaula dentro del centro de cultivo, pudiendo estar las jaulas de los extremos del centro (jaulas cabecera) más expuestas a estadíos infectantes presentes en el zooplancton que las jaulas ubicadas en otras posiciones. Además, las líneas genéticas suelen no ser homogéneas dentro de un centro de cultivo, por lo que la variación entre jaulas puede también explicarse en parte por las diferentes líneas genéticas presentes en el centro, e incluso por diferencias en los orígenes de esmoltificación.

7. CONCLUSIONES

Los resultados del presente estudio señalan una serie de factores de riesgo, derivados tanto de condiciones ambientales como de manejo, que afectan los niveles observados de caligidosis.

En el caso de las especies cultivadas, se identificó al salmón coho como la especie más resistente a esta enfermedad, y a la trucha arco iris y al salmón del Atlántico como las más susceptibles.

A través de la identificación de la zona productivo-ambiental como un factor de riesgo, se logró establecer dos grupos de zonas: uno de mayor, y otro de menor riesgo para esta parasitosis.

El peróxido de hidrógeno apareció como el tratamiento más efectivo en la reducción de los niveles de infestación, lo cual sugiere una pérdida de sensibilidad del parásito frente al tratamiento con benzoato de emamectina.

Se encontró una asociación de la densidad de cultivo a mayores cargas parasitarias.

Apareció una variabilidad significativa, no explicada, en los distintos niveles de agregación del sistema productivo, lo que indica que existen uno o más factores no considerados en el presente estudio que pueden estar originándola.

Finalmente, se puede concluir que la epidemiología de la caligidosis asoma como un problema complejo y cuya mejor comprensión requerirá de nuevas investigaciones que busquen determinar los factores que afectan su severidad, con el objetivo de mejorar el sistema de vigilancia y control oficial, y así minimizar el impacto que tiene esta enfermedad en la salmonicultura nacional.

8. RECOMENDACIONES

Es recomendable:

- Caracterizar ambientalmente la macrozona de cultivo, desde el punto de vista oceanográfico y de la distribución de los hospederos silvestres.
- Incorporar el uso de Sistemas de Información Geográfica (SIG) y epidemiología espacial, para identificar clusters espaciales, temporales y espacio-temporales, con el objeto de identificar en qué áreas y en qué periodos se da el mayor riesgo para esta enfermedad. Ello permitirá delimitar de mejor forma zonas de mayor y menor riesgo, y zonas de manejo coordinado para esta enfermedad
- Aun cuando los resultados sugieren una disminución de la sensibilidad del parásito frente al benzoato de emamectina, esta requiere de confirmación mediante ensayos de determinación de sensibilidad *in vitro* y estudios en terreno
- Incorporar nuevos tratamientos a medida que estos se encuentren disponibles y realizar rotación con los actualmente disponibles
- Investigar los efectos de la densidad sobre el bienestar de los peces, y buscar establecer un rango de densidades que permita un adecuado nivel de bienestar

En la medida que estas y otras herramientas sean incorporadas en los sistemas de vigilancia y control, se podrán obtener mejores resultados en el manejo de esta enfermedad, lo cual traerá repercusiones positivas para la industria, al mejorar sus resultados productivos y promover su sustentabilidad. También se podrá disminuir el impacto en el medio ambiente, al disminuir el uso de pesticidas y se beneficiarán los consumidores, al recibir un producto en mejores condiciones y con un menor nivel de residuos.

9. BIBLIOGRAFÍA

- **ASHLEY, P.** 2007. Fish Welfare: Current issues in aquaculture. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 104: 199-235
- **BARBER, I.** 2007. Parasites, behavior and welfare in fish. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 104: 251-264
- **BRAVO, S.; SEVATDAL, S.; HORSBERG, T.** 2008. Sensitivity assessment of *Caligus rogercresseyi* to emamectin benzoate in Chile. *Aquaculture.* 282: 7-12
- **BRUNO, D.W.; STONE, J.** 1990. The role of saithe, *Pollachius virens* L., as a host for the sea lice, *Lepeophtheirus salmonis* (Krøyer, 1837) and *Caligus elongatus* Nordmann. *Aquaculture* 89: 201-207
- **CARVAJAL, J.; GONZÁLES, L; GEORGE-NASCIMENTO, M.** 1998. Native sea lice (Copepoda: Caligidae) infestation of salmonids reared in netpen systems in southern Chile. *Aquaculture.* 166: 241-246
- **CASAS-CORDERO, E.; ALVIAL, A.; REDÓN, J.** 2004. Informe definición de zonas Programa Zonal INTESAL de Salmón Chile. INTESAL
- **COSTELLO, M.** 2006. Ecology of sea lice parasitic on farmed and wild fish. *Trends Parasitol.* 22(10): 475-483
- **CHILE. Servicio Nacional de Pesca.** 2007. Instructivo diagnóstico general por jaula anual.
- **DI RIENZO, J.; MACCHIAVELLI, R.; CASANOVES, F.** 2008. Modelos mixtos en Infostat. Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. 127 p.
- **DI RIENZO, J.; GÚZMAN, A.; CASANOVES, F.** 2002. A multiple comparisons method based on the distribution of the root node distance of a binary tree obtained by average linkage of the matrix of Euclidean distances between treatment means. *JABES.* 7: 129-142
- **DOHOO, I.; MARTIN, W.; STRYHN, H.** 2003. Veterinary epidemiologic research. AVC Inc. Prince Edward Island, Canada. 706 p.
- **FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations.** 2006. The state of world fisheries and aquaculture. 180 p.
- **FAST, M.; ROSS, N.; MUSTAFA, A.; SIMS, D.; JOHNSON, S.; CONBOY, G.; SPEARE, D.; JOHNSON, G.; BURKA, J.** 2002. Susceptibility of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*, Atlantic salmon *Salmo salar* and coho salmon *Oncorhynchus kisutch* to experimental infection with sea lice *Lepeophtheirus salmonis*. *Dis. Aquat. Org.* 52: 57-68

- **GEORGIADIS, M.P.; GARDNER, I.A.; HEDRICK, R.P.** 2001. The role of epidemiology in the prevention, diagnosis, and control of infectious diseases of fish. *Prev. Vet. Med.* 48: 287-302
- **GLOVER, K.A.; AASMUNDSTAD, T.; NILSEN, F.; STORSET, A.; SKAALA, A.** 2005. Variation of Atlantic salmon families (*Salmo salar* L.) in susceptibility to the sea lice *Lepeophtheirus salmonis* and *Caligus elongatus*. *Aquaculture*. 245: 19-30
- **GONZÁLEZ, L.; CARVAJAL, J.; GEORGE-NASCIMENTO, M.** 2000. Differential infectivity of *Caligus flexispina* (Copepoda, Caligidae) in three farmed salmonids in Chile. *Aquaculture*. 183: 13-23
- **GONZÁLEZ, L.; CARVAJAL, J.** 2003. Life cycle of *Caligus rogercresseyi*, (Copepoda: Caligidae) parasite of Chilean reared salmonids. *Aquaculture*. 220: 101-117
- **GUSTAFSON, L.; ELLIS, S.; ROBINSON, T.; MARENGHI, F.; ENDRIS, R.** 2006. Efficacy of emamectin benzoate against sea lice infestations of Atlantic salmon, *Salmo salar* L.: evaluation in the absence of an untreated contemporary control. *J. Fish Dis.* 29: 621-627
- **HAMILTON-WEST, C.; ARRIAGADA, G.; LARA, M.; VALDÉS, P.; GALLARDO, A.; URCELAY, S.** 2008. Epidemiological description of Sea Lice (*Caligus rogercresseyi*) situation in southern Chile in August 2007. *J. Fish Dis.* (aceptado en).
- **HEVRØY, E.M.; BOXASPEN, K.; OPPEDAL, F.; TARANGER, G.L.; HOLM, J.C.** 2003. The effect of artificial light treatment and depth on the infestation of the sea louse *Lepeophtheirus salmonis* on Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) culture. *Aquaculture* 220: 1-14
- **JOHNSON, S.; ALBRIGHT, L.** 1992a. Comparative susceptibility and histopathology of the response of naive Atlantic, chinook and coho salmon to experimental infection with *Lepeophtheirus salmonis* (Copepoda: Caligidae). *Dis. Aquat. Org.* 14: 179-193
- **JOHNSON, S.; ALBRIGHT, L.** 1992b. Effects of cortisol implants on the susceptibility and the histopathology of the responses of naive coho salmon *Oncorhynchus kisutch* to experimental infection with *Lepeophtheirus salmonis* (Copepoda: Caligidae). *Dis. Aquat. Org.* 14: 195-205
- **JOHNSON, S.C.; TREASURER, J.W.; BRAVO, S.; NAGASAWA, K.; KABATA, Z.** 2004. A review of the impact of parasitic copepods on marine aquaculture. *Zool. Stud.* 43(2):229-243

- **JORGENSEN, E.H., CHRISTIANSEN, J.S., JOBLING, M.** 1993. Effects of stocking density on food intake, growth performance and oxygen consumption in Arctic charr (*Salvelinus alpinus*). *Aquaculture* 110, 191–204.
- **McANDREW, K.J.; SOMMERVILLE, C.; WOOTEN, R.; BRON, J.E.** 1998. The effects of hydrogen peroxide treatment on different life-cycle stages of the salmon louse, *Lepeophtheirus salmonis* (Krøyer, 1837). *J. Fish Dis.* 21: 221-228.
- **PIKE, A.W.; WADSWORTH, S.L.** 1999. Sea lice on salmonids: their biology and control. *Adv. Parasitol.* 44: 233-337
- **PINHEIRO, J.; BATES, D.** 2000. *Mixed-Effects Models in S and S-plus.* Springer Verlag New York, Inc. 537 p.
- **PINO-MARAMBIO, J.; MORDUE, A.J.; BIRKETT, M.; CARVAJAL, J.; ASENCIO, G.; MELLADO, A.; QUIROZ, A.** 2007. Behavioral Studies of host, non-host, and mate location by the Sea Louse, *Caligus rogercresseyi* Boxshall y Bravo, 2000 (Copepoda: Caligidae). *Aquaculture* 271: 70-76
- **REVIE, C.W GETTINBY, G.; TREASURER, J.W; RAE, G.H.; CLARK, N.** 2002. Temporal, environmental and management factors influencing the epidemiological patterns of sea lice (*Lepeophtheirus salmonis*) infestations on farmed Atlantic salmon (*Salmo salar*) in Scotland. *Pest Manag. Sci.* 58: 576-584
- **REVIE, C.W.; GETTINBY, J.W.; TREASURER, J.W.; WALLACE, C.** 2003. Identifying epidemiological factors affecting sea lice *Lepeophtheirus salmonis* abundance on Scottish salmon farms using general linear models. *Dis. Aquat. Org.* 57: 85-95
- **REVIE, C.W.; HOLLINGER, E.; GETTINBY, G.; LEES, F.; HEUCH, P.A.** 2007. Clustering of parasites within cages on Scottish and Norwegian salmon farms: Alternative sampling strategies illustrated using simulation. *Prev. Vet. Med.* 81: 135-147
- **ROMERO, M.; SUTHERLAND, I.H.; KATZ, T.; ENDRIS, R.G.** 1999. Efficacy of SLICE™ against sea lice *Caligus flexispina* and *Caligus teres* on Atlantic salmon in Chile. En: *Proceedings of the 4th international Conference on Sea Lice, Dublin, Ireland, 28-30 de junio 1999.* *Aquacult. Res* 31
- **ROZAS, M.; ASENCIO, G.** 2007. Evaluación de la situación epidemiológica de la caligiasis en Chile: hacia una estrategia de control efectiva. *Salmociencia.* 2: 43-59

- **SAKSIDA, S.; KARREMAN, G.; CONSTANTINE, J.; DONALD, A.** 2007. Differences in *Lepeophtheirus salmonis* abundance levels on Atlantic salmon farms in the Broughton Archipelago, British Columbia, Canada. *J. Fish Dis.* 30: 357-366
- **SALMONCHILE. Departamento de estudios.** 2009. Ficha industria del salmón N° 12/2008
- **STONE, J.; SUTHERLAND, I.H.; SOMMERVILLE, C.S; RICHARDS, R.H; VARMA, K.J.** 2000. Commercial trials using emamectin benzoate to control sea lice *Lepeophtheirus salmonis* infestations in Atlantic salmon *Salmo salar*. *Dis. Aquat. Org.* 41: 141-149
- **STONE, J.; SUTHERLAND, I.H.; SOMMERVILLE, C.S; RICHARDS, R.H; VARMA, K.J.** 1999. The efficacy of emamectin benzoate as an oral treatment of sea lice, *Lepeophtheirus salmonis* (Krøyer, 1837), infestations in Atlantic salmon, *Salmo salar* L. *J. Fish Dis.* 22: 261-270
- **TREASURER, J.W.; GRANT, A.** 1997. The efficacy of hydrogen peroxide for the treatment of farmed Atlantic salmon, *Salmo salar* L. infested with sea lice (Copepoda: Caligidae). *Aquaculture* 148: 265-275
- **TUCKER, C.S.; SOMMERVILLE, C.; WOOTTEN, R.** 2002. Does size really matter? Effects of fish surface area on the settlement and initial survival of *Lepeophtheirus salmonis*, an ectoparasite of Atlantic salmon *Salmo salar*. *Dis. Aquat. Org.* 49: 145-152
- **TUCKER, C.S.; SOMMERVILLE, C.; WOOTTEN, R.** 2000. The effect of temperature and salinity on the settlement and survival of copepodids of *Lepeophtheirus salmonis* (Krøyer, 1837) on Atlantic salmon, *Salmo salar* L. *J. Fish Dis.* 23: 309-320
- **TURNBULL, J.; BELL, A.; ADAMS, C.; BRON, J.; HUNTINGFORD, F.** 2005. Stocking density and welfare of cage farmed Atlantic salmon: application of a multivariate analysis. *Aquaculture* 243: 121-132
- **WAGNER, G.; FAST, M.; JOHNSON, S.** 2007. Physiology and immunology of *Lepeophtheirus salmonis* infections of salmonids. *Trends Parasitol.* 24: 176-183
- **ZAGMUTT-VERGARA, F.J.; CARPENTER, T.E.; FARVER, T.B.; HEDRICK, R.P.** 2005. Spatial and temporal variations in sea lice (Copepoda: Caligidae) infestations of three salmonid species farmed in net pens in southern Chile. *Dis. Aquat. Org.* 64:163-173