



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



“Evaluación de la efectividad de dos tratamientos farmacológicos sobre la carga de *Caligus rogercresseyi* en salmónidos de cultivo en Chile”

CARMEN LUZ VILLARROEL TORRES

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

PROFESOR GUÍA: DR. SANTIAGO URCELAY VICENTE

SANTIAGO – CHILE

2010



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



“Evaluación de la efectividad de dos tratamientos farmacológicos sobre la carga de *Caligus rogercresseyi* en salmónidos de cultivo en Chile”

CARMEN LUZ VILLARROEL TORRES

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. FERNANDO FREDES M.	_____	_____
PROFESOR CONSEJERO: DR. PEDRO SMITH S.	_____	_____

SANTIAGO – CHILE

2010

I. AGRADECIMIENTOS

A mi padre que me ha apoyado en toda circunstancia a lo largo de mi vida, a mi hija que me ha motivado a ser una mejor persona, a mi madre que me ha amado y creído siempre en mi, a mi abuela que con su ternura y dedicación me ha cuidado, a mi hermana por ser una gran compañera en la vida y por toda la alegría que me brinda, y a mis otros padres “Pechón” y “Ju” (los hermanitos) que me han ayudado en los momentos más difíciles de mi vida y me han entregado siempre su cariño.

A mi profesor guía el Dr. Santiago Urcelay que me acogió en la Unidad de Epidemiología y me ha apoyado durante todo este proceso, y a todos los toninos y toninas que conforman la Unidad, por toda la alegría y buena onda que me han dado, en especial a Tadaishi y Gabriel que me ayudaron en mi tesis y en mi vida.

Gracias... los quiero mucho.

Carmen Luz.

II. RESUMEN

Comúnmente se denominan Piojos de mar a los ectoparásitos copépodos que infestan los cultivos de salmones en el mundo, causantes de grandes pérdidas económicas en la salmonicultura. En Chile la especie que adquiere mayor importancia es *Caligus rogercresseyi*, presente en el 99% de las jaulas de los centros de cultivo del país

La evaluación de la efectividad en terreno de los tratamientos aplicados para controlar la caligidosis es un tema complejo, ya que existen varios factores que influyen sobre las cargas parasitarias que deben ser considerados, pero a la vez, necesario en el escenario sanitario de la salmonicultura en Chile.

El objetivo del presente trabajo fue comparar la efectividad de dos tratamientos antiparasitarios, deltametrina y benzoato de emamectina, utilizados en los centros de cultivo del país para el control de esta parasitosis.

En el presente estudio se analizaron datos de más de 50 centros de cultivo de salmones, ubicados en las regiones de Los Lagos (X) y Aysén del General Carlos Ibáñez del Campo (XI), los cuales fueron recolectados entre enero y mayo del año 2008, bajo el marco del programa de Vigilancia y Control de la Caligidosis, implementado por el Servicio Nacional de Pesca (Sernapesca). La información fue analizada utilizando el método del Análisis de la Covarianza (ANCOVA), el cual reúne las técnicas del análisis de la varianza y del análisis de la regresión, permitiendo tratar variables independientes cualitativas (factores) y cuantitativas (covariables). Se crearon dos modelos, uno para identificar diferencias entre las cargas totales, y otro para identificar diferencias entre las proporciones de juveniles.

Los resultados muestran que existen menores cargas parasitarias totales en el grupo tratado con deltametrina, con una carga media de 7,7 parásitos por pez. Además, este mismo grupo presenta una mayor proporción de parásitos juveniles (0,45) que el tratado con benzoato de emamectina (0,28). La variable peso presentó una asociación positiva con las cargas totales, mientras que el factor centro resultó ser significativo en ambos modelos, explicando un gran porcentaje de la variabilidad de estos. Variables como temperatura, salinidad, densidad, biomasa del centro, biomasa de la jaula, número de peces del centro, número de peces de la jaula y el factor tiempo resultaron no ser significativos en los modelos.

III. SUMMARY

Copepods ectoparasites that parasitize salmon farming in the world are commonly called Sea lice, causing great economic losses in salmon aquaculture. In Chile, the species *Caligus rogercresseyi* is the most important, as it is present in 99% of the cages of fish farms in the country.

Assessing the field effectiveness of treatments to control caligidosis is a complex issue because there is a number of factors influencing the parasitic loads that must be considered, but at the same time, it is necessary in the sanitary context of salmon farming in Chile.

The aim of this study was to compare the effectiveness of two treatments for parasites, deltamethrin and emamectin benzoate, used in fish farms in the country to control caligidosis.

This study analyzed data from more than 50 salmon farms, located in the regions of Los Lagos (X) and Aysen del General Carlos Ibáñez del Campo (XI), which was collected between January and May 2008 within the framework of the Program of Monitoring and Control of Caligidosis implemented by Sernapesca. The data was analyzed using the method of analysis of covariance (ANCOVA in Spanish), which brings together the techniques of analysis of variance and regression analysis, allowing to deal with independent variables both qualitative (factors) and quantitative (covariates). Two models were created, one to identify the differences between the total loads and the other to spot differences in the proportions of young parasites.

The results showed that there are less total parasitic loads in the group treated with deltamethrin, with an average of 7.7 parasites per fish. In addition, this group has a higher proportion of young parasites (0.45) than the group treated with emamectin benzoate (0.28). The weight variable showed a positive association with the total loads, while the center variable was found to be a significant factor in both models, explaining a large percentage of the variability of these. Variables such as temperature, salinity, density, biomass of the center, biomass of the cage, number of fish in the center, number of fish in the cage and the time factor were not significant in the models.

IV. ÍNDICE

CONTENIDO	PÁGINA
1. INTRODUCCIÓN.....	6
2. REVISIÓN BILIOGRÁFICA.....	8
3. OBJETIVOS.....	18
4. MATERIALES Y MÉTODOS.....	19
5. RESULTADOS.....	24
6. DISCUSIÓN.....	33
7. CONCLUSIONES.....	43
8. RECOMENDACIONES.....	44
9. BIBLIOGRAFÍA.....	45

INTRODUCCIÓN

El piojo de mar es el principal ectoparásito que ataca los cultivos de salmones en el mundo. En el hemisferio norte la especie que produce mayores pérdidas económicas a la salmonicultura es *Lepeophtheirus salmonis*, mientras que en el hemisferio sur es *Caligus rogercresseyi* (Costello, 2006). Este último ha sido descrito recientemente por Boxshall y Bravo en el año 2000, existiendo aspectos de su biología, ecología y conducta que se desconocen, lo que limita en parte su control.

En países como Noruega, Escocia, Irlanda y Chile la salmonicultura es un componente económico importante dentro de las exportaciones, donde la presencia del piojo de mar tiene un impacto significativo. Se estiman pérdidas económicas que van de US\$0,2 a 0,4 por Kg. de salmón producido, asociadas a los costos de tratamientos, la disminución del estado de salud, la menor conversión alimenticia, la disminución de la tasa de crecimiento y al menor valor comercial del producto final (Jonhson *et al.*, 2004).

En el hemisferio norte, las medidas de control utilizadas sobre el piojo de mar se han basado principalmente en manejos y terapia química, las cuales han resultado en la desaparición de los brotes epidémicos de esta parasitosis. Sin embargo, estos países aún cuentan con niveles significativos de infestación, lo que se refleja en la continua realización de tratamientos (Jonhson *et al.*, 2004; Rozas y Ascencio, 2007).

En Chile, la principal medida de control ha sido la aplicación de terapia química. Desde 1982 se han reportado infestaciones de ectoparásitos en salmones de cultivo, situación que propició el uso de agentes antiparasitarios. Las primeras drogas utilizadas pertenecían al grupo de los organofosforados: Triclorfón (Neguvon®) y Diclorvos (Nuvan®), las cuales se aplican en forma de baños, actuando sobre los estadios adultos; luego, a finales de los años 80, se introdujo el uso de ivermectina, la cual es administrada a través del alimento y actúa sobre todos los estadios parasitarios. A partir del año 2000 se autorizó el uso de otro antiparasitario oral, el benzoato de emamectina, el cual representó, hasta el año 2007, la única alternativa de tratamiento frente al parásito. Esto último, sumado a la ausencia de un plan de manejo y control integral del parásito, pudo haber llevado a la creación de resistencia por parte de *C. rogercresseyi* frente al

benzoato de emamectina (Bravo *et al.*, 2008), situación que se habría visto reflejada en las alzas registradas en los conteos de cargas parasitarias en el período 2004-2007, llevados a cabo a través de un programa de monitoreo del parásito implementado por el Instituto Tecnológico del Salmón (INTESAL) en el sur del país. De esta manera, los niveles registrados en el año 2007 fueron de 4 a 5 veces los del año 2004 (Rozas y Asencio, 2007).

Frente a esta situación sanitaria, en febrero del año 2007, las autoridades nacionales autorizaron el uso de baños de peróxido de hidrógeno para centros con niveles de cargas parasitarias muy altas. Luego, dentro del segundo semestre del año 2007, se autorizó el uso de otra droga antiparasitaria, la deltametrina, la cual es utilizada en la actualidad junto al benzoato de emamectina; además se implementó el “Programa Específico de Vigilancia y Control de Caligidosis”, en el cual se realizó un diagnóstico inicial en agosto del 2007, manteniéndose monitoreos quincenales, hasta la fecha, sobre las cargas parasitarias y otros factores de interés epidemiológico (Hamilton-West *et al.*, 2008).

En el presente trabajo se analizó la información recolectada por el “Programa Específico de Vigilancia y Control de Caligidosis”, en su fase de muestreo quincenal, con el fin de comparar la eficacia entre los tratamientos realizados con benzoato de emamectina y deltametrina sobre el control del parásito y sus estadíos juveniles.

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Caligus rogercresseyi es un crustáceo, de la clase Maxillopoda, subclase Copepoda, perteneciente a la familia Caligidae, de desarrollo directo, descrito por Boxshall y Bravo en el año 2000. Con anterioridad había sido reportado en el país como *Caligus flexipina* Lewis, 1964, en infestaciones de salmón coho (Boxshall y Bravo, 2000). *C. rogercresseyi* es el parásito dominante en los centros de cultivo de salmones en el sur de Chile, produciendo pérdidas económicas, ya sea por el costo de los tratamientos, por la pérdida del estado sanitario, lo que predispone a enfermedades, y pérdida del valor del producto final (González y Carvajal, 2003).

Biología y conducta

Caligus rogercresseyi presenta ocho estadios de desarrollo: tres planctónicos (dos nauplius y un copepodito) y cinco parasitarios (chalimus I, II, III y IV, y adulto) (González y Carvajal, 2003). El estadio infestante es el de copepodito, el cual se adhiere al hospedero a través de su par de antenas y cono bucal, luego en el hospedero muda a chalimus I, desarrollando un filamento frontal el cual le permite la adhesión en los estadios siguientes hasta la etapa adulta, donde tiene la capacidad de desplazarse sobre el pez (Fig.1). El estadio de copepodito puede sobrevivir en el agua de mar, sin anclarse a un pez, durante 10 días, gracias a su vitelo (Farías, 2005).

González y Carvajal (2003) comprobaron que el tiempo de duración del ciclo de vida es dependiente de la temperatura del agua, demostrando que a 16,7°C (condiciones de verano) el ciclo tiene una duración de 18 días, mientras que a 10,3°C (condiciones de invierno) tiene una duración de 45 días aproximadamente. En este estudio se estimó que la temperatura mínima de desarrollo del parásito es de 4,2°C.

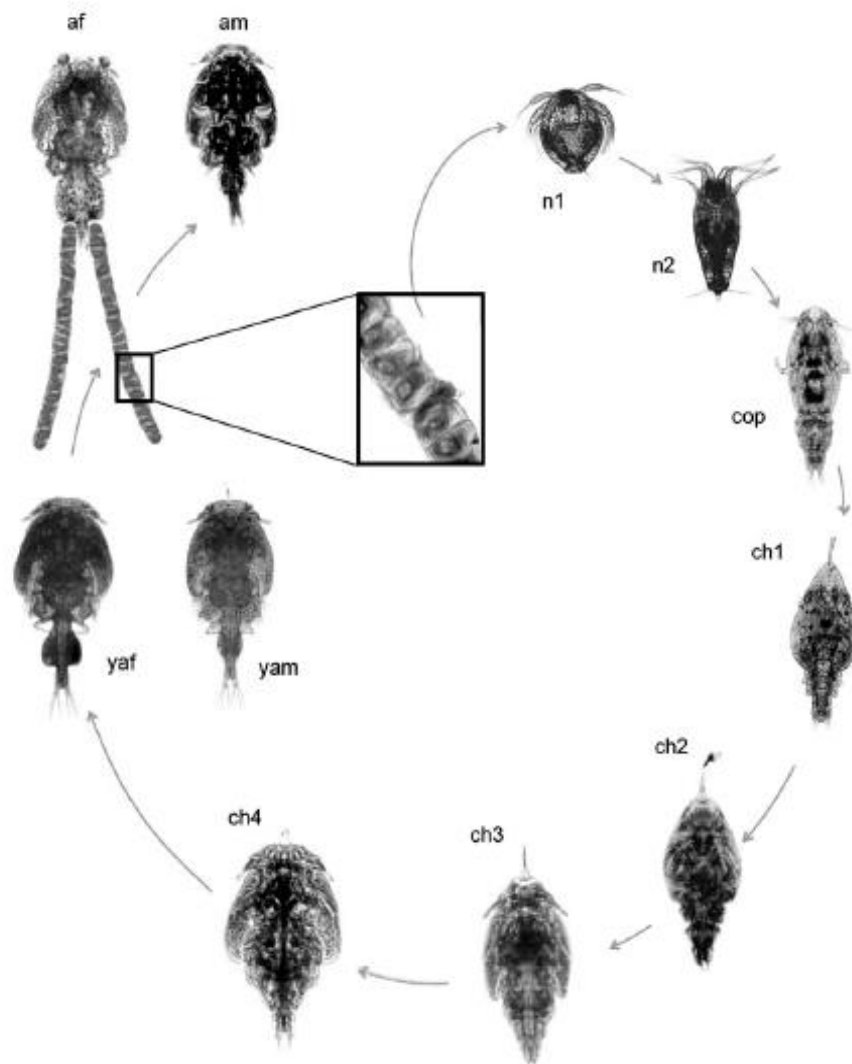


Fig.1: Ciclo biológico de *Caligus rogercresseyi*. n1: nauplius 1; n2: nauplius 2; cop: copepodito; ch1: chalimus 1; ch2: chalimus 2; ch3: chalimus 3; ch4: chalimus 4; yaf: hembra adulta joven; yam: macho adulto joven (yaf y yam no son estados de desarrollo distintos de los adultos); am: macho adulto;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

Enfermedad

La caligidosis produce desmejoramiento en la condición del pez, e incluso en algunos casos la muerte. Las zonas comúnmente parasitadas por *C. rogercresseyi* son las aletas pectorales y el vientre (González, 2006). El daño producido por el parásito es provocado por la sujeción sobre el hospedero y la alimentación que realiza del mucus epidérmico, la piel y la sangre (González *et al.*, 2000). Al establecerse el parásito en el hospedero, secreta varios químicos, que incluyen enzimas digestivas del mucus del salmón, lo que ayuda a la alimentación y supresión de la respuesta inmune en el lugar de fijación (Rozas y Ascencio, 2007). Las alteraciones que provoca incluyen: pérdida de epitelio, sangramiento, aumento en la descarga de mucus, alteración bioquímica del mucus, necrosis de los tejidos y, consecuentemente, la pérdida de la función protectora, microbiológica y física de la piel (Fig.2) (Costello, 2006).

Los peces mayormente parasitados corresponden generalmente a los más débiles y pequeños. Además, existe una mayor susceptibilidad a la infestación con *C. rogercresseyi* por parte de la trucha arco iris que del salmón del Atlántico y el salmón coho, siendo este último el más resistente (González *et al.*, 2000; Zagmutt-Vergara *et al.*, 2005).

La resistencia presentada por salmón coho puede ser explicada, en parte, por una mayor producción de mucus, en comparación con salmón del Atlántico, contando así con una mayor cantidad de componentes químicos defensivos y una mejor protección física del epitelio (Johnson y Albright, 1992). Estudios realizados por Mackinnon (1998), demostraron que existe una mayor respuesta celular del salmón coho frente a la presencia de *L. salmonis*, en comparación con el salmón del Atlántico, la cual puede llegar a causar la muerte de los estadios chalimus adheridos.



Fig.2: Salmónido parasitado por *Caligus rogercresseyi*.

Ribas Seguel, Andrea 2007, UCH FAVET.

Distribución mundial de copépodos calígidos y su impacto en la industria del salmón

Países como Canadá, Irlanda, Escocia y Noruega presentan en sus cultivos de salmónidos infestaciones de copépodos calígidos. Las especies más reportadas son *C. clemensi* (Océano Pacífico), *C. elongatus* (Océano Atlántico) y *L. salmonis* (distribución circumpolar), siendo este último el causante de mayores pérdidas económicas. En la actualidad, los brotes de estos parásitos son raramente informados, aunque las tasas y niveles de infestación permanecen altos (Johnson *et al.*, 2004).

Las medidas de control de estos países están basadas en manejos y terapia química. Dentro de los manejos realizados se destacan:

- Períodos de descanso de los centros de cultivo entre la cosecha y siembra de peces, los cuales duran a lo menos el tiempo necesario para que las etapas infestantes mueran por falta de hospederos, disminuyendo la presión de infestación sobre la próxima siembra (Johnson *et al.*, 2004).
- Coordinación por zonas de tratamientos. Un estudio reportó que los niveles de infestación disminuyen de forma significativa (60%) si se realizan tratamientos coordinados por zona; además el número de tratamientos en el intervalo de

tiempo de coordinación se reduce significativamente (Wadsworth, 1998 citado por Rozas y Ascencio, 2007)

- Separación por clases anuales, la cual ha sido altamente exitosa en la reducción de la tasa de infestación de peces juveniles recientemente ingresados y es utilizada en Escocia, Noruega e Irlanda (Rae, 2002; Johnson *et al.*, 2004).

Las pérdidas económicas causadas por la caligidosis han disminuido considerablemente en los países del hemisferio norte, pero existen costos asociados a su control que no son menores (Johnson *et al.*, 2004). Rae (2002) estimó que los costos para la industria salmonera escocesa son de US\$31 a 46 millones por año basado en 130.000 t. de salmónidos producidos, lo que da un rango de US\$0.23 a 0.35/Kg. al año. Las pérdidas anuales para Noruega se han estimado en aproximadamente US\$67 millones (Johnson *et al.*, 2004).



Fig.3: Salmónido parasitado por *Lepeopteirus salmonis*.

Tomado de Costello, 2006

Situación epidemiológica en Chile

Hasta el año 2004, los niveles de infestación se encontraban en valores aceptables para la industria salmonera. Los peces eran tratados cuando presentaban una carga media de 5 o más parásitos por pez, y los tratamientos eran efectivos hasta esa fecha, existiendo un solo producto autorizado para la desparasitación, siendo éste el benzoato de emamectina (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 S.A. (INTESAL), se observa que para el período 1999-2002 la carga parasitaria media de *C. rogercresseyi* era de 3,38 parásitos adultos por pez (Zagmutt-Vergara *et al.*, 2005); posteriormente en el año 2004 las cargas medias registradas fueron de 5, 10 y 3 parásitos totales por pez para trucha arco iris, salmón del Atlántico y coho, respectivamente, aumentando de forma considerable en el año 2007 a 20, 34 y 29 parásitos totales por pez para las mismas especies de salmónidos (Fig. 4) (Rozas y Asencio, 2007).

Frente a esta situación sanitaria, el Servicio Nacional de Pesca (SERNAPESCA), en el año 2007, autoriza el uso de nuevos tratamientos antiparasitarios, e implementa un plan de monitoreo y control de la caligidosis. Los tratamientos autorizados fueron: baños de peróxido de hidrógeno, para centros con altas cargas, y baños con deltametrina. El programa de monitoreo cuenta con dos etapas: la primera es un Diagnóstico General por Jaula (DGJA) y la segunda es un monitoreo quincenal de los centros en actividad (Hamilton-West *et al.*, 2008).

Un estudio realizado con los datos registrados en el DGJA del año 2007, mostró que la prevalencia de los centros de cultivo fue de un 76,7% y la abundancia media fue de 11,9 parásitos totales por pez. El análisis de las abundancias medias por especie dio como resultado 13,9 parásitos totales por pez para trucha arco iris, 13,8 para salmón del Atlántico y 1,4 para salmón coho. Las zonas con mayores prevalencias concuerdan con las de mayores abundancias, que a la vez son las que se encuentran más al norte de toda el área ocupada por los centros de cultivo en el país (Hamilton-West *et al.*, 2008).

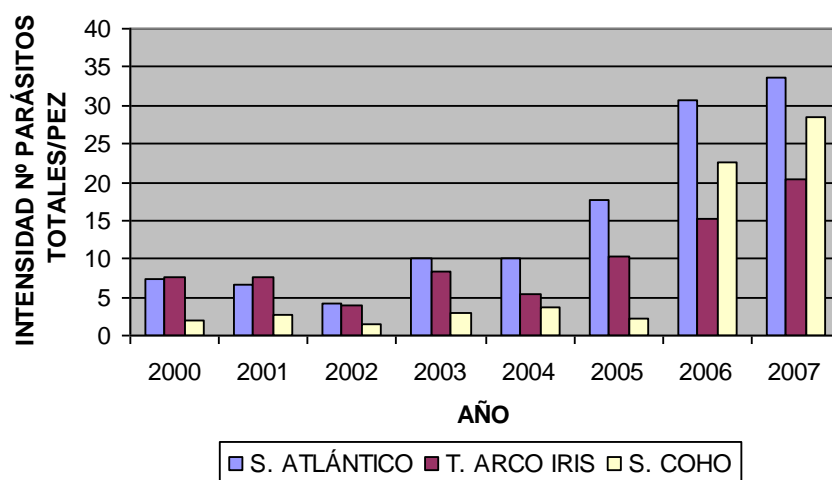


Fig.4: Evolución de la carga de *Caligus rogercresseyi* periodo 2000-2007. Modificado de Rozas y Asencio, 2007 y reproducido por la autora.

Factores que afectan la carga parasitaria de *Caligus*

Factores como la especie del pez, temperatura y salinidad del agua, peso de los peces, cuentas parasitarias de juveniles, forma de las jaulas, estado de tratamiento en los meses anteriores, interacción entre los tratamientos de los meses previos y actuales, y densidad de cultivo han indicado tener efectos significativos sobre la carga parasitaria en Chile (Zagmutt-Vergara *et al.* 2005; Yatabe *et al.*, 2009).

La especie de pez cultivada tiene relación con una mayor resistencia a la infestación de *Caligus* por parte de salmón coho, que salmón del Atlántico y trucha arcoiris, siendo esta última la más susceptible (González *et al.*, 2000; Zagmutt-Vergara *et al.*, 2005).

La temperatura del agua condiciona el tiempo de duración del ciclo de vida del piojo de mar y sus diferentes estadios, lo que ha sido ampliamente estudiado tanto en condiciones de campo como de laboratorio (Tully, 1989; Johnson y Albright, 1991; González y Carvajal, 2003).

A partir de un estudio de terreno y laboratorio, con estadios planctónicos de *C. rogercresseyi* (nauplius y copepoditos), se demuestra que esta especie no

sobrevive a salinidades menores de 20‰ (González y Carvajal, 2003), presentando una mayor sobrevivencia entre las 25-33 ‰ (Zagmutt-Vergara *et al.*, 2005).

Estudios epidemiológicos realizados sobre factores que afectan la carga parasitaria de *L. salmonis* en el hemisferio norte, muestran que el número de tratamientos usados en un período dado, el tipo de tratamiento, el volumen de la jaula, velocidad de las corrientes, el tiempo de remoción de las masas de aguas de los canales y fiordos, y los niveles de carga parasitaria de los 6 meses anteriores han sido claves para explicar las cargas. Otros como densidad, biomasa, temperatura del agua y la presencia de vecinos no han mostrado tener tanta importancia (Revie *et al.*, 2003). Un estudio de laboratorio realizado por Tucker *et al.* (2002) concluye que mayores pesos de los peces hospederos se asocian a mayores cargas parasitarias de *L. salmonis* ya que presentan una mayor superficie corporal susceptible a ser parasitada. .

Fármacos utilizados en Chile para el control de la caligidosis

Benzoato de emamectina

El Benzoato de emamectina es una lactona macrocíclica, perteneciente al grupo de las avermectinas, antiparasitarios derivados del actinomiceto *Streptomyces avermitilis* (Roberts y Hutson, 1999), que aparece a fines de los años 90 (Stone *et al.*, 1999, 2000). En Chile se usa desde 1999 y fue la primera droga oficialmente autorizada en el país para el control de la caligidosis en el año 2000 (Bravo *et al.*, 2008). En artrópodos su mecanismo de acción es potenciar la acción de neurotransmisores como el glutamato y el ácido-gamma-aminobutírico (GABA), estimulando el flujo de entrada de iones cloruro dentro de las células nerviosas y musculares, lo que lleva a un trastorno del impulso nervioso y pérdida de la función celular, hiperpolarizando la célula y previniendo la despolarización en la placa terminal (Roberts y Hutson, 1999; Davies y Rodger, 2000).

Bravo *et al.* (2008) realizaron un estudio sobre la sensibilidad de *C. rogercresseyi* frente a benzoato de emamectina. Sus resultados sugieren una reducción de ésta en todos los centros de cultivo analizados, los que se

encontraban en las áreas de Hornopirén, Puerto Montt y Chiloé. La reducción de sensibilidad resultó no estar asociada a la localización ni a los años que llevaban operando los centros. El uso por casi 10 años de ivermectina, droga perteneciente al mismo grupo, puede haber contribuido a esta pérdida de sensibilidad. Un estudio realizado en Escocia muestra resultados similares, evidenciando una pérdida de sensibilidad de *L. salmonis* frente a esta droga (Lees *et al.*, 2008b).

Peróxido de hidrógeno

El peróxido de hidrógeno es un compuesto químico altamente polar que se descompone en agua y oxígeno. Los tratamientos generalmente se realizan a concentraciones de 1.500 ppm por 20 minutos, pero debido a que presentan menor efectividad a bajas temperaturas, en épocas invernales son usados en mayores concentraciones (MacAndrew *et al.*, 1998).

El mecanismo de acción para este producto no se encuentra bien estudiado, sugiriéndose que consiste en la formación de burbujas en el hemocele de los parásitos, lo que le entregaría una mayor flotabilidad a los estadios adultos causando su remoción del pez, efecto que solo duraría mientras el tratamiento es aplicado, luego los parásitos pueden volver a infestar a los salmónidos. Los estadios chalimus sólo disminuyen su tasa de desarrollo, manteniendo una sobrevivencia normal, mientras que los estadios planctónicos mueren después de una hora de tratamiento y la proporción de huevos que eclosionan disminuye (McAndrew *et al.*, 1998).

Deltametrina

La deltametrina es una droga perteneciente al grupo de los piretroides, dentro del cual se encuentra entre las drogas de cuarta generación, perteneciente al tipo II. Su mecanismo de acción es a través de la alteración de los canales de sodio de la membrana neuronal (axón), manteniéndolos abiertos por más tiempo, lo que lleva a alargar la fase de despolarización, reduciendo la amplitud del potencial de acción, con pérdida de excitabilidad eléctrica (Roberts y Hutson, 1999).

En Noruega, Escocia e Irlanda se han registrado tratamientos fallidos los cuales fueron realizados con deltametrina y otros piretroides, como high-cis-cypermctrina y cypermctrina. En un estudio realizado en los centros que reportaron estos registros, se encontró que existe una pérdida de sensibilidad por parte de *L. salmonis* frente a estos fármacos, la cual se recupera en la siguiente siembra de peces, no incrementándose el número de tratamientos fallidos en un período de tres años (Sevatdal *et al.* 2005).

El presente estudio tuvo como objetivo evaluar y comparar la eficacia de dos tratamientos, benzoato de emamectina y deltametrina, aplicados durante el año 2008 en Chile y su acción sobre los estadios juveniles de *C. rogercresseyi*, ya que existen interrogantes sobre el efecto en terreno que tiene deltametrina sobre estos estadio y como este efecto influye sobre las cargas parasitarias totales. Para esto, se utilizó la información generada por SERNAPESCA, a través de su “Programa de Vigilancia Oficial de la Caligidosis” llevado a cabo a partir del año 2007. Los resultados generados en el presente estudio buscan apoyar la evaluación de las medidas tomadas respecto a la caligidosis en el país durante el último tiempo.

OBJETIVO GENERAL

- Evaluar la efectividad de los tratamientos realizados entre enero y mayo de 2008, utilizando datos recolectados por el “Programa Específico de Vigilancia y Control de Caligidosis” llevado a cabo por SERNAPESCA.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Comparar la proporción de juveniles de *Caligus* entre grupos tratados con diferentes antiparasitarios y dentro de cada grupo a través del tiempo.
- Comparar las cargas totales de *Caligus* entre grupos de tratamientos y dentro de cada grupo a través del tiempo.

MATERIAL Y MÉTODOS

MATERIAL

El estudio se desarrolló a partir de la información generada en el Programa Específico de Vigilancia y Control de la caligidosis de SERNAPESCA, en su etapa de monitoreo quincenal, tomando los datos obtenidos desde la primera quincena de enero del año 2008 hasta la segunda quincena de mayo del mismo año, en las regiones de Los Lagos (X) y Aysén del General Carlos Ibáñez del Campo (XI). El Programa cuenta con dos fases, la primera llamada Diagnóstico General por Jaula (DGJA), la cual es realizada durante el mes de agosto de cada año, iniciándose en el año 2007. Esta consiste en un muestreo aleatorio de 10 peces por jaula de todos los centros de cultivo en actividad. La segunda fase consta de un muestreo quincenal que se realiza durante todos los meses del año, en todos los centros de cultivo en actividad. El muestreo es aleatorio tomando 10 peces por jaula, desde 4 jaulas de cada centro, dos de las jaulas son tomadas al azar y otras 2 corresponden a las que obtuvieron las mayores cargas parasitarias por pez en el último DGJA realizado. Los peces son transportados a un baño anestésico, donde se realiza un recuento de distintos estadios de desarrollo del parásito en el siguiente orden:

- Hembra ovígera (HO): Hembra adulta de *C. rogercresseyi* con uno o dos sacos de huevos.
- Adultos móviles (AM): Considera a las hembras adultas no ovígeras de *C. rogercresseyi* y machos adultos.
- Juveniles (JV): estadios inmaduros de *C. rogercresseyi*, fijados al pez por un filamento rostral, que comprende los estados chalimus 1, 2, 3 y 4.

Finalmente, se ponen los peces en un baño de recuperación para ser devueltos posteriormente a la jaula¹.

A partir de los datos generados en el muestreo quincenal, se obtuvo la carga media de parásitos totales por pez por centro, la cual se consiguió al sumar la carga de hembras ovígeras, adultos móviles y juveniles de los peces muestreados en cada centro, y promediar esta suma por el número de individuos muestreados. De forma similar, se procedió para obtener la carga

¹ CHILE. Servicio Nacional de Pesca. 2007. Instructivo monitoreo quincenal

media de juveniles, sumando los parásitos de los peces correspondientes a este estadio, y calculando el promedio de esta suma con respecto al número de individuos muestreados en cada centro de cultivo.

Además del conteo de parásitos a nivel de peces, se recolectaron datos sobre variables ambientales y de manejo, tanto a nivel de centro como a nivel de jaula, las cuales se detallan en la siguiente lista:

A nivel de centro:

- Especie cultivada (salmón del Atlántico, salmón coho, trucha arco iris).
- Peso promedio de los peces, expresado en gramos
- Densidad media de peces, expresada en kg/m³
- Tratamiento aplicado en la quincena (deltametrina, benzoato de emamectina o peróxido de hidrógeno).
- Aplicación de manejo del fotoperíodo (si o no) Zona y sub-zona productivo-ambiental: según la definición de zonas y sub-zonas utilizada por SERNAPESCA.
- Temperatura promedio del agua (medida en grados Celsius a tres metros de profundidad)
- Salinidad promedio de agua (medida en ‰ a tres metros de profundidad)
- Biomasa de los peces, expresada en toneladas/centro
- Número de peces

A nivel de jaula:

- Biomasa de los peces, expresada en toneladas/jaula
- Número de peces

MÉTODO

La información fue compilada y manejada utilizando planillas de cálculo en Excel 2003 de Microsoft. La unidad epidemiológica considerada en el presente estudio fue el centro.

Se utilizaron datos provenientes de centros que cultivan trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) y/o salmón del Atlántico (*Salmo salar*) dejando fuera los que cultivan salmón coho, ya que este presenta mayor resistencia frente al parásito (Johnson y Albright, 1992; Mackinnon, 1998; González *et al.*, 2000; Zagmutt-Vergara *et al.*, 2005; Yatabe, 2009), situación que puede alterar los

resultados del estudio. Además, una revisión de los datos con que se trabajó, mostró que el número de centros que cultivan salmón coho era reducido, alcanzando el 1% del total de los centros que pudiesen considerarse dentro del estudio.

Se formaron dos grupos de centros que realizaron tratamientos con un solo fármaco durante el período de estudio, uno que trató con benzoato de emamectina con 27 centros y otro con deltametrina, con 25 centros, los cuales se ubicaron desde la zona del Seno del Reloncaví hasta la zona de Aysén (Fig.5).

La información entregada por el programa no detalla si los tratamientos fueron realizados en todas las jaulas del centro o solo en algunas, asumiéndose que cada tratamiento realizado en el centro incluía las jaulas muestreadas.

Para formar el grupo tratado con benzoato de emamectina se seleccionaron centros que utilizaron el producto entre 3 a 8 veces. El establecimiento del límite inferior de este rango se basó en que emamectina posee una acción residual de hasta 45 días de duración (Gustafson *et al.*, 2006), lo que implica que si se aplican tratamientos cada 45 días existe una ventana de tiempo de 135 días en que los peces están liberando el producto, que corresponden aproximadamente a 4,5 meses, tiempo bastante próximo a los 5 meses de duración del presente estudio. Para establecer el límite superior no se contaba con alguna indicación sobre el tiempo mínimo que debe transcurrir entre dos tratamientos, por otro lado se ha estimado que el efecto medio se aprecia a las dos semanas (Gustafson *et al.*, 2006), por lo que se decidió mantener como límite superior el número máximo de tratamientos en los centros que solo aplicaban emamectina, lo cual corresponde a 8 tratamientos, equivalentes en el plazo de 5 meses aproximadamente a un tratamiento cada 2,5 semanas.

Los centros seleccionados que conforman el grupo tratado con deltametrina aplicaron el producto, entre 4 a 10 veces. Teniendo como antecedente que el laboratorio que lo distribuye en Chile (PHARMAQ) recomienda no aplicarlo antes de 14 días de finalizado el último tratamiento con el mismo producto, se fijó el límite superior del rango. Por otra parte, para establecer el límite inferior, solo se contó con la información de que deltametrina no presenta un período residual (Sevatdal y Horsberg, 2003), esto por la escasez de publicaciones sobre el presente producto, por lo que se tubo que establecer el límite inferior de

tratamientos de forma arbitraria, en función al número de centros del grupo y bajo un criterio subjetivo que apuntó a evidenciar el efecto del tratamiento durante el período de estudio.

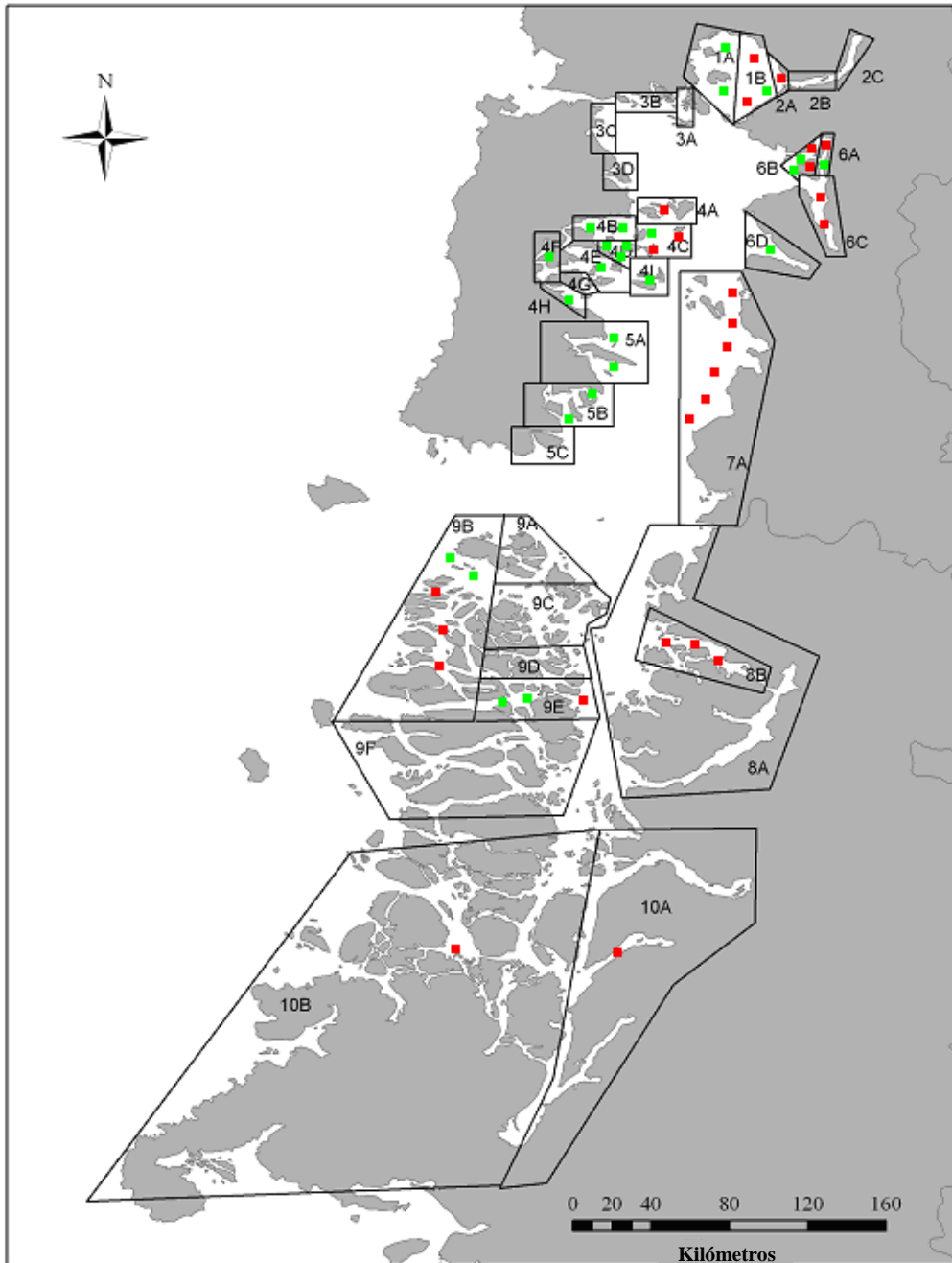


Fig. 5: Mapa que muestra las ubicaciones de los centros en estudio. Los cuadrados rojos simbolizan los centros tratados con emamectina y los verdes los con deltametrina. Existen 10 zonas productivo-ambientales marcadas y enumeradas del 1 al 10, la letra que acompaña al N° simboliza una subzona de esta, las cuales suman un total de 36. Mapa tomado de Hamilton-West *et al.*, 2008 y adaptado por la autora.

Las variables dependientes estudiadas en el presente estudio fueron la carga total de parásitos y la proporción de juveniles respecto del total de parásitos, siendo esta última utilizada para estudiar los efectos de los antiparasitarios sobre los estadios juveniles.

El análisis estadístico empleado fue el Análisis de la Covarianza (ANCOVA), el cual permite realizar comparaciones de medidas repetidas, entre grupos con distintos tratamientos y dentro de cada grupo de tratamiento. El ANCOVA reúne las técnicas del análisis de la varianza y del análisis de la regresión, permitiendo tratar variables independientes cualitativas (factores) y cuantitativas (covariables) (Pérez-López, 2005). La base del procedimiento es un ANOVA, al que su variable dependiente ha sido corregida por una o más variables cuantitativas (covariables).

El modelo más simple de ANCOVA es el de un factor (tratamiento) y una covariable, que se muestra a continuación:

$$Y_{ij} = \mu + A_i + \beta X_{ij} + E_{ij}$$

Siendo Y_{ij} la variable dependiente, μ la media poblacional, A_i el factor fijo (tratamiento), β la pendiente de la covariable, X_{ij} la covariable y E_{ij} el error.

Se utilizaron dos modelos de ANCOVA, uno para estudiar las diferencias entre y dentro (cambio a través del tiempo) de los grupos de tratamientos utilizando la variable dependiente carga total de parásitos y otro para estudiar las mismas diferencias utilizando la variable dependiente proporción de juveniles respecto al total de parásitos.

Las covariables estudiadas fueron: salinidad del agua, temperatura del agua, densidad de peces del centro, peso promedio de los peces a nivel de centro, biomasa promedio a nivel de jaula, biomasa del centro, número de peces promedio por jaula y número de peces por centro. La variable fotoperíodo no fue estudiada, ya que solo el 1% del total de centros incluidos en el estudio había realizado algún manejo del fotoperíodo, lo cual se consideró como un porcentaje muy bajo para establecer algún tipo de comparación. Se creó además la variable centro, para estudiar el efecto que tuviese cada centro sobre las variables dependientes.

Se calcularon coeficientes de correlación de Spearman entre las distintas covariables, para excluir variables colineales de los modelos.

A partir de los modelos iniciales, se seleccionaron las covariables que se incluirían en los modelos finales. La estrategia de selección fue a través del procedimiento de "Backward elimination", en el cual se ajusta un modelo completo, con todas las covariables, las que son removidas secuencialmente de acuerdo al nivel de significación que presenten (prueba de F parciales), siendo la variable que se elimina en cada paso la que presenta el mayor valor de p (siempre que este no sea significativo), ajustando el modelo resultante después de cada remoción de una variable, hasta que ninguna de las covariables restantes en el modelo presente un coeficiente de regresión con un valor de $p > 0,05$. Además, se estudiaron en los modelos los posibles efectos confundidores que una covariable cualquiera pudiesen tener sobre alguna otra. Estos efectos se evidencian cuando una variable al ser removida produce un cambio importante (20% ó más) en el coeficiente de regresión de alguna otra variable, lo cual debe ser analizado y la variable potencialmente confundidora retenida en el modelo (Dohoo *et al.*, 2003).

La interpretación de los coeficientes de regresión (β) consiste en que por cada unidad de aumento de la variable independiente, la variable dependiente transformada aumenta (o disminuye) en el valor del coeficiente de regresión respectivo (Dohoo *et al.*, 2003).

Los datos de las cargas totales y las proporciones de juveniles de los grupos de tratamiento fueron sometidos a un análisis para comprobar su distribución normal, utilizando la prueba de Shapiro-Wilks modificado (Infostat, 2008), evidenciando que la distribución de las cargas totales y proporciones de juveniles no eran normales, lo cual llevó a la transformación a través de la aplicación del logaritmo natural (Ln) de las cargas totales y de raíz cuadrada de las proporciones de juveniles. Finalizada la transformación, se utilizó nuevamente la prueba de Shapiro-Wilks modificado e histogramas, para comprobar su distribución normal, lo cual evidenció que las distribuciones transformadas eran normales.

Todos los análisis estadísticos fueron realizados utilizando el programa Infostat desarrollado por la Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.

RESULTADOS

La selección de los centros que conformaron cada uno de los grupos de tratamiento fue realizada desde un total aproximado de 500 centros, muchos de los cuales no presentaron peces durante un tiempo prolongado dentro del período de estudio, no realizaban tratamientos o trataban de forma combinada (emamectina y deltametrina), por lo cual el número de centros seleccionado por grupo fue pequeño en comparación al total, siendo todos los centros estudiados aproximadamente un 10% de los centros en actividad para el período.

Correlación entre las covariables

Los coeficientes de correlación de Spearman calculados entre las covariables se detallan en la tabla 1. Se utilizó esta medida de correlación ya que las covariables no presentaban distribución normal.

Tabla 1: Coeficientes de correlación de Spearman entre pares de covariables.

	Temperatura	Densidad centro	Peso	N° peces jaula	N° peces centro	Biomasa jaula	Biomasa centro	Salinidad
Temperatura	1,00	0,36	0,82	0,12	0,65	0,02	0,59	0,02
Densidad centro	-0,06	1,00	0,00	0,17	1,8E-03	0,00	0,00	0,23
Peso	0,02	0,80	1,00	3,6E-04	1,7E-06	0,00	0,00	0,66
N° peces jaula	0,11	-0,10	-0,26	1,00	2,9E-03	0,01	0,07	0,38
N° peces centro	-0,03	-0,22	-0,34	0,21	1,00	0,17	0,01	0,03
Biomasa jaula	0,17	0,67	0,77	0,18	-0,10	1,00	0,00	0,65
Biomasa centro	-0,04	0,69	0,80	-0,13	0,20	0,70	1,00	0,36
Salinidad	-0,16	0,09	0,03	-0,06	-0,15	-0,03	-0,07	1,00

La tabla 1 muestra los coeficientes de correlación de Spearman entre las variables, los que se encuentran por debajo de la diagonal principal, la que esta compuesta solamente de elementos con valor 1. La colinealidad entre dos o más variables consiste en que estas variables poseen una alta relación lineal entre si, por lo que dentro del modelo estarán explicando una parte muy similar de la variable dependiente. Esto altera la explicación de la variable dependiente, modificando los valores de los coeficientes de regresión (β) de las variables independientes, principalmente. Dos variables se consideran colineales si es que presentan un coeficiente de correlación mayor a 0,5 (Dohoo *et al.*, 2003), por lo que las variables peso, densidad, biomasa de la jaula y biomasa del centro

fueron consideradas como tales entre sí, debiendo elegir una sola variable de este grupo que ingresó a los modelos, la cual fue escogida por su contribución al ajuste de los modelos. Finalmente las variables analizadas fueron peso, temperatura, salinidad, N° de peces centro y N° de peces jaula.

Análisis de las cargas totales de los grupos de tratamiento

En el modelo final del análisis realizado sobre las cargas totales de los grupos de tratamiento (Modelo de las cargas totales: MCT), sólo se retuvo la covariable peso, la cual presentó un valor de p 0,0012 y un β de $2,4 \times 10^{-4}$, lo que quiere decir que por cada gramo de peso que aumente el pez, la carga parasitaria, expresada en Ln, aumentará en 0,00024 unidades, por lo tanto en 100 gr el aumento será de 0,024 y en 1000 gr. de 0,24 (1,2 parásitos). El resto de las covariables estudiadas fueron descartadas del modelo en el proceso de selección. En el modelo se encontraron diferencias significativas entre las cargas totales de los grupos de tratamiento, con un valor de p de 0,0008 (Tabla 2), asociándose a menores cargas el grupo tratado con deltametrina (Tabla 3). Además, también existen diferencias significativas entre los centros, con un valor de p de este factor $<0,0001$. La variable tiempo no presentó diferencias significativas entre sus categorías, lo que nos muestra que no hubo variaciones importantes de las cargas entre enero y mayo del año 2008 en ninguno de los dos grupos de tratamiento (Tabla 2).

Tabla 2: Análisis de la varianza del MCT y estadísticos asociados

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	Coef
Modelo	73,05	56	1,30	4,21	<0,0001	
Tratamiento	3,60	1	3,60	11,64	0,0008	
Centro mensual	63,55	50	1,27	4,11	<0,0001	
Tiempo mensual	2,53	4	0,63	2,04	0,0914	
Peso	3,37	1	3,37	10,90	0,0012	2,4E-04
Error	45,19	146	0,31			
Total	118,24	202				

El modelo final para este análisis es el de tres factores (tratamiento, centro y tiempo) y una covariable (peso), el cual se denominó modelo de cargas totales (MCT) y se muestra a continuación:

$$Y_{ij} = \mu + A_i + B_j + C_k + \beta X_{ijk} + E_{ijk}$$

$$i=1 \text{ y } 2; j= 1, \dots, 52; k=1, \dots, 5$$

Siendo Y_{ij} la carga parasitaria total, μ la media poblacional, A_i el factor tratamiento, B_j el factor centro, C_k el factor tiempo, β la pendiente de la covariable peso (X_{ijk}) y E_{ij} el error.

Las cargas medias totales corregidas de cada grupo de tratamiento son 2,05 unidades transformadas para el grupo tratado con deltametrina y 2,11 unidades transformadas para el grupo tratado con emamectina. Es necesario calcular el antilogaritmo de estos datos para interpretarlos como carga parasitaria, lo que da como resultado 7,77 parásitos totales por pez para deltametrina y 8,25 parásitos totales por pez para emamectina (Tabla 3).

Tabla 3: Medias de los grupos tratados del MCT.

Tratamiento	Medias	n
Deltametrina	2,05	94
Emamectina	2,11	109

El modelo presentó un R^2 de 0,62, lo que representa el porcentaje de la varianza que es explicado por el modelo, y un R^2 ajustado de 0,47, el cual representa lo mismo que el R^2 , pero tomando en cuenta el número de datos y variables del modelo (Tabla 4).

Tabla 4: Valor R^2 y R^2 ajustado del MCT.

Variable	N	R^2	R^2 Aj	CV
LN cargatotal	203	0,62	0,47	27,28

Validación de los supuestos del MCT

A continuación se muestra un gráfico Q-Q Plot, el cual se utiliza para evaluar el grado de ajuste de un conjunto de datos a una distribución teórica (en este caso normal), en el cual se observa que los residuos se disponen en una recta de 45°

indicando que estos presentan una distribución normal, por lo que el modelo cumplen con el supuesto de normalidad (Fig. 6).

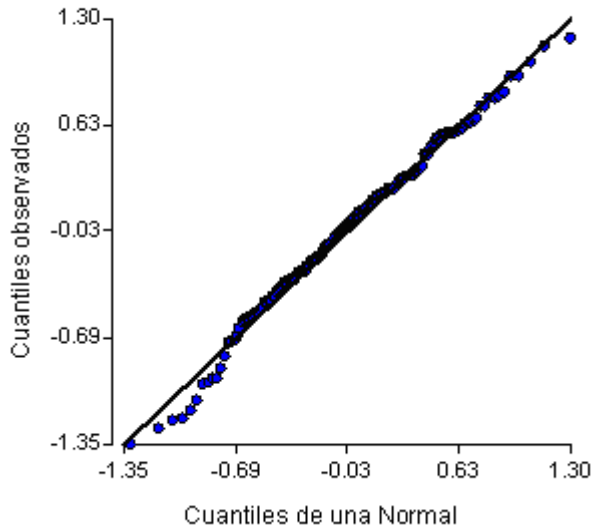


Fig. 6: Gráfico Q-Q Plot de residuos del MCT

Además se realizó una prueba de Shapiro-Wilks modificada para respaldar esta observación, en la cual se concluye que los datos siguen una distribución normal, ya que el valor de p es $> 0,05$, aceptando H_0 , la cual plantea que la distribución de los residuos es similar a la normal. (Tabla 5).

Tabla 5: Prueba de Shapiro-Wilks modificada con los residuos del MCT

Variable	n	Media	D.E.	W*	p (una cola)
RDUO_LN_cargatotal	203	0,00	0,47	0,98	0,2444

Para comprobar el cumplimiento del supuesto de homogeneidad de varianzas, se construyó un gráfico de dispersión de los residuos versus los valores predichos, donde al observarse una nube de puntos con patrón aleatorio se confirma el cumplimiento de este supuesto (Fig. 7).

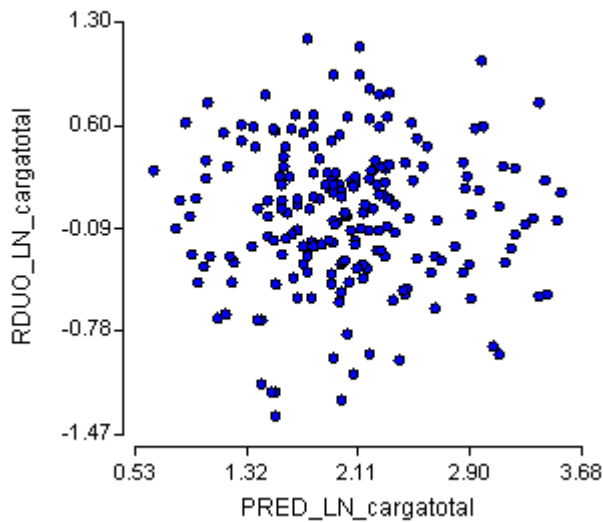


Fig. 7: Gráfico de dispersión de residuos v/s valores predichos del MCT

Para comprobar el supuesto de independencia de los residuos se utilizó el estadígrafo de Durbin-Watson (Universidad de Cádiz, 2002), cuya fórmula se muestra a continuación:

$$d = \frac{\sum_{t=2}^T (e_t - e_{t-1})^2}{\sum_{t=1}^T e_t^2}.$$

Siendo:

T= nº de observaciones.

e_t = residuos.

Podemos asumir independencia entre los residuos cuando el estadístico toma valores entre 1,5 y 2,5. En este caso el valor fue de 2,25 lo cual confirma el supuesto de independencia.

Análisis de las proporciones de juveniles

En el modelo final de las proporciones de juveniles (MPJ) no se mantuvieron covariables, ya que ninguna presentó un nivel de significación menor a 0,05. Se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos ($p < 0,0001$) y entre los centros, ($p < 0,0001$). La variable tiempo no fue significativa, puesto que no

se detectaron diferencias entre las proporciones de juveniles en el período de estudio dentro de cada grupo de tratamiento (Tabla 6).

Tabla 6: Análisis de la varianza del MPJ y estadísticos asociados

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	4,13	55	0,08	5,52	<0,0001
Tratamiento	1,16	1	1,16	85,66	<0,0001
Centro	2,90	50	0,06	4,27	<0,0001
Tiempo mensual	0,06	4	0,01	1,09	0,3612
Error	2,51	185	0,01		
Total	6,64	240			

El modelo final se construyó con tres factores, tratamiento, centro y tiempo, el cual es un modelo ANOVA, ya que no se incorporaron covariables:

$$Y_{ij} = \mu + A_i + B_j + C_k + E_{ijk}$$

$$i=1 \text{ y } 2 \quad j=1, \dots, 52 \quad k=1, \dots, 5$$

Siendo Y_{ij} la variable dependiente, μ la media poblacional, A_i el factor tratamiento, B_j el factor centro, C_k el factor tiempo y E_{ijk} el error.

Las medias de las proporciones de juveniles transformadas para cada grupo de tratamiento son 0,67 unidades transformadas para deltametrina y 0,53 para emamectina. Para interpretar estos resultados debemos elevarlos al cuadrado (inverso de la raíz cuadrada), lo que da como resultado una proporción de 0,45 para el grupo tratado con deltametrina y 0,28 para el tratado con emamectina (Tabla 7).

Tabla 7: Media de los grupos de tratamientos del MPJ

Tratamiento	Medias	n
Emamectina	0,53	125
Deltametrina	0,67	116

El modelo presentó un R^2 de 0,62, lo que y un R^2 ajustado de 0,51 (Tabla 8).

Tabla 8: R^2 y R^2 ajustado del MPJ

Variable	N	R^2	R^2 Aj	CV
RAIZ Proporción Juv	241	0,62	0,51	19,69

Validación de los supuestos del modelo de las MPJ

El gráfico Q-Q de la figura N° 4 muestra que los residuos presentan una distribución normal (Fig. 8).

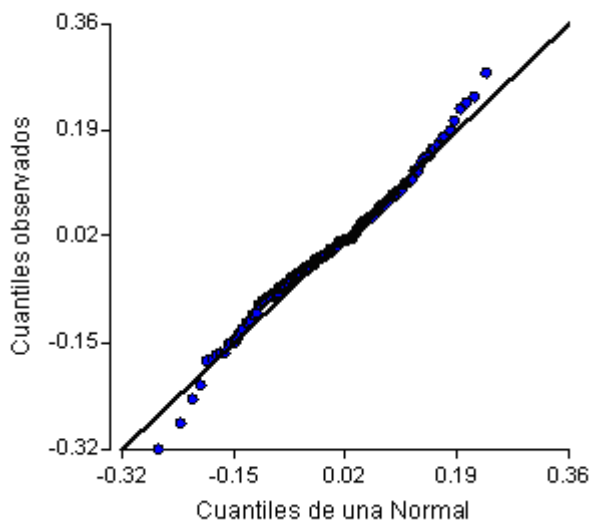


Fig. 8: Gráfico Q-Q Plot de residuos del MPJ

Se realizó una prueba de Shapiro-Wilks modificada sobre los residuos para respaldar esta observación, la cual dio como resultado un valor de $p > 0,05$, por lo que se considera que la distribución es normal (Tabla 9).

Tabla 9: Prueba de Shapiro-Wilks modificada con los residuos del MPJ

Variable	n	Media	D.E.	W*	p (una cola)
RDUO RAIZ Proporción	193	0,00	0,10	0,99	0,6050

El gráfico de dispersión de los residuos versus los valores predichos muestra un patrón de distribución aleatorio, lo que confirma el cumplimiento del supuesto de de homogeneidad de varianzas (Fig. 9).

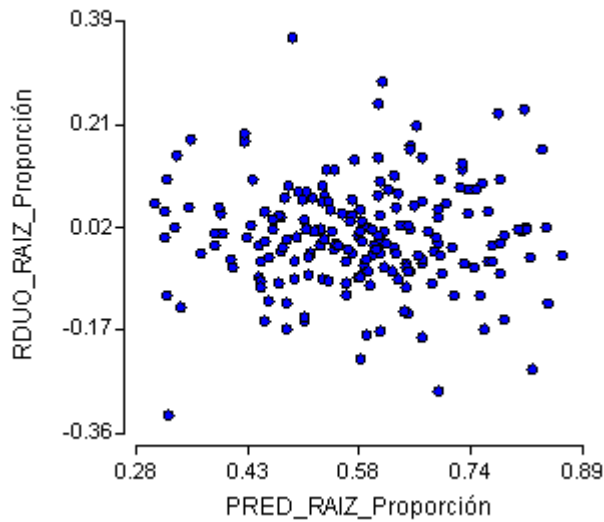


Fig.9: Gráfico de dispersión de residuos v/s valores predichos del MPJ

Para comprobar el supuesto de independencia de los residuos se utilizó el estadígrafo de Durbin-Watson, cuyo valor fue de 2,378, encontrándose dentro de los límites que permiten considerar los datos como independientes.

DISCUSIÓN

Los centros utilizados para realizar estos análisis no fueron seleccionados al azar, dado que no se podían obtener centros que solo hubieran aplicado un tipo de tratamiento durante el período de estudio por un procedimiento aleatorio. Los criterios de selección apuntaron a escoger centros en que el efecto de los tratamientos pudiera ser observado sin ser sobre o sub estimados, producto de la frecuencia de administración. Los centros seleccionados presentan una amplia distribución geográfica, cubriendo una variedad de condiciones ambientales. Sólo la zona de Chiloé Norte quedó fuera del estudio. Los centros analizados constituyen aproximadamente el 10% del total de centros en actividad en el período de estudio. Por todo lo anterior, se estima que los centros seleccionados representan en gran medida la acción de los tratamientos evaluados, dentro del área geográfica de desarrollo de la salmonicultura en el país.

Covariables

Temperatura

El efecto de la temperatura del agua sobre el desarrollo del piojo de mar ha sido bastante estudiado, ya sea en condiciones de campo (Tully, 1989; Zagnutt-Vergara *et al.*, 2005) o de laboratorio (Johnson y Albright, 1991; Tucker *et al.*, 2000; González y Carvajal, 2003). En general se describe que a mayores temperaturas el ciclo de vida es más corto, lo que trae como consecuencia un aumento en las cargas parasitarias. En Chile, Zagnutt-Vergara *et al.* (2005) realizaron un estudio epidemiológico el cual describe que existe una asociación entre la carga de *C. rogercresseyi* y la temperatura del agua. Por otro lado, Boxaspen (1997) en un estudio de campo, concluye que existe una correlación positiva entre la abundancia de *L. salmonis* y la temperatura del agua. Esto no coincide con los resultados del presente estudio, donde esta covariable en el MCT resultó no ser significativa, lo que pudiese estar explicado por la distribución de las temperaturas y sus frecuencias relativas, donde el 68% de las observaciones se encuentra entre los 11 y 12,9C°, implicando una baja variabilidad de dicha covariable, lo que pudiese generar solo pequeños efectos en la duración de los ciclos de vida, no alcanzando a influenciar el nivel de cargas parasitarias.

En el MPJ, para que existan asociaciones entre alguna covariable y la variable dependiente, se necesita que esta tenga distintos efectos sobre los estadios de *Caligus*. Se ha reportado que existe una asociación entre la temperatura y la proporción de juveniles de *L. salmonis*, lo que podría explicarse por un aumento en la sobrevivencia y parasitación del estadio copepodito a mayores temperaturas (Tucker *et al.*, 2000), reflejándose en un alza de la cantidad de estadios juveniles en el pez. En el presente estudio no se identificó un efecto significativo de esta variable sobre el MPJ, lo que pudiese nuevamente estar explicado por la concentración de datos sobre algunos pocos grados Celsius, no alcanzando a ejercer el efecto descrito anteriormente.

Salinidad

El efecto de la salinidad sobre el parásito ha sido estudiado en menor detalle que la temperatura, ya sea a nivel de campo como de laboratorio (Zagmutt-Vergara *et al.*, 2005). González y Carvajal (2003) describen que los estadios nauplius y copepoditos de *C. rogercresseyi*, son más susceptibles que los demás estadios a bajas salinidades, muriendo en niveles iguales o menores a 20‰. Por otra parte, un estudio realizado en *L. salmonis* describe que niveles menores a 24‰ de salinidad, se asocian a una menor tasa de asentamiento y velocidad de desarrollo de los parásitos (Tucker *et al.*, 2000). Los datos utilizados en este estudio presentan un estrecho rango de variación: solo 2 de 197 mediciones realizadas estuvo bajo las 25 ‰, mientras que el 95% de los datos se encontraban en el rango de crecimiento óptimo (25 a 33 ‰) (Zagmutt-Vergara *et al.*, 2005), por lo que se puede considerar que esta variable actuó como una constante, lo que explicaría que no se asociara significativamente a las variables dependientes de los modelos, MCT y MPJ.

Peso de los peces

Los resultados de este estudio, muestran que la variable peso de los peces está asociada significativamente a la carga parasitaria en el MCT, lo que coincide con un estudio de laboratorio realizado en *L. salmonis* por Glover *et al.* (2004), donde describe una correlación positiva entre la variable peso de los peces e intensidad parasitaria individual del pez. Por otro lado, estudios epidemiológicos realizados por Zagmutt-Vergara *et al.* (2005) y Yatabe (2009),

en *C. rogercresseyi*, concluyen que existe una asociación entre la carga parasitaria y el peso de los peces, describiendo que pesos superiores se asocian a mayores niveles de infestación. Una explicación que los autores dan para esto es que los peces de pesos superiores cuentan con un tiempo más prolongado de exposición al parásito (por una edad más avanzada), por lo que han podido sufrir mayores niveles de parasitación. Otro factor que puede explicar esta asociación, es la superficie corporal total del pez expuesto al parásito, la que es mayor en peces más pesados, permitiendo una mayor parasitación de *Caligus* en un mismo individuo.

En el MPJ la variable peso no resultó estar asociada significativamente, lo que era esperable ya que a pesos superiores de los peces existe un mayor tiempo de exposición al parásito y los peces aportan un mayor estrato para que *C. rogercresseyi* parasite y se desarrolle, pero en esto no existe una diferencia por estadio parasitario, afectando a todos los estadios de forma similar.

Nº de peces de las jaulas y del centro

No se encontraron estudios donde se relacione al piojo de mar con estas variables, lo que sugiere que no han sido identificadas como factores de riesgo para las cargas parasitarias. Una variable que se vincula con estas, se describe en un estudio sobre factores que afectan la abundancia de *L. salmonis* realizado por Revie *et al* (2003), donde un panel de expertos identificaron al número de peces que se manejaba en los dos últimos ciclos como una variable de interés para describir la carga parasitaria, pero no encontraron que fuera significativa al incluirla en modelos estadísticos. En el presente estudio las variables Nº de peces de las jaulas y del centro no fueron significativas en los modelos, lo que coincide con lo descrito anteriormente.

Colinealidad entre las variables peso, densidad y biomasa

Las variables densidad y biomasa están definidas como kg/m^3 y toneladas/centro respectivamente, ambas son determinadas por unidades de masa, al igual que la variable peso de los peces (peso promedio de los peces del centro), lo que pudiese explicar la alta correlación que existe entre las tres variables.

Los cambios que se producen en la densidad de los peces de un centro están influenciados constantemente por las variaciones en la biomasa, lo que se originan por el ingreso y/o salida de peces y crecimiento de estos. Otro factor que influye es la variación en el volumen del agua en el que habitan los peces, pero esta se debe generalmente a un acontecimiento puntual, como el desdoblamiento de una jaula.

Por otro lado, el peso promedio de los peces en un centro de engorda, como los del presente estudio, en general va a aumentar a medida que los peces crezcan como también lo harán los kg y toneladas de pez, lo que a su vez influye sobre la biomasa y densidad, trayendo como consecuencia un aumento de las tres variables.

Factores

Tratamiento

Los resultados del análisis realizado en el MCT, muestran que existen diferencias significativas entre los tratamientos, al analizar las medias de las cargas totales de los grupos se observa que el grupo tratado con deltametrina es el que presenta un menor nivel de cargas, por lo que sería más eficaz en la eliminación del piojo de mar. Sobre el benzoato de emamectina, Stone *et al.* (1999, 2000) describieron que es uno de los quimioterapéuticos de mayor eficacia en el control del piojo de mar, debido a que actúa sobre todos los estadios parasitarios. Por otro lado, en un estudio epidemiológico basado en datos de un período de 11 años en Escocia, se describe que ha existido una disminución significativa de las cargas de piojo de mar (*L. salmonis* y *C. elongatus*) a partir del año 2000 en adelante, situación que coincide con la introducción de benzoato de emamectina como antiparasitario en ese país (Lees *et al.*, 2008a). A pesar de esta alta efectividad descrita para el fármaco, entre el año 2004 al 2007 en Chile se han reportado alzas en las cargas parasitarias, lo que ha sido registrado por el programa de monitoreo del piojo de mar que realiza INTESAL, situación atribuida a una posible pérdida de sensibilidad por parte del parásito frente a este, ya que entre el año 2000 al 2007 fue el único tratamiento oficialmente autorizado en el país (Rozas y Asencio, 2007). Por otra parte, un estudio realizado por Bravo *et al.* (2008), concluye, a través de bioensayos, que existe una pérdida de sensibilidad frente al benzoato de emamectina en el total

de centros muestreados (18), dentro del área situada entre Puerto Montt y el sur de Chiloé.

Deltametrina es un fármaco utilizado comúnmente en Noruega e Irlanda (Sevatdal *et al.*, 2005), existiendo muy pocas publicaciones científicas sobre los estadios parasitarios en que actúa y su eficacia como antiparasitario. Roth (2000), hace referencia a que deltametrina ejerce su acción sólo sobre los estadios adultos, lo que puede indicar que posee una menor eficacia que emamectina. Por otra parte, se ha reportado una pérdida de sensibilidad al fármaco, principalmente en Noruega, reflejada en casos de tratamientos fallidos en algunos centros de cultivo, lo cual ha sido confirmado a través de bioensayos. La eficacia del fármaco, fue recuperada después de un período de descanso de los centros, situación explicada por la muerte de los parásitos con menor sensibilidad (Sevatdal *et al.*, 2005). En Chile no se ha publicado información sobre tratamientos fallidos o pérdida de sensibilidad a este fármaco.

En la revisión de publicaciones científicas, no se encontró alguna que compare la eficacia de estos dos fármacos. Se podría considerar que el benzoato de emamectina presenta una mayor eficacia que la deltametrina, ya que actúa sobre todos los estadios parasitarios, sin embargo, en Chile en los últimos años, ha disminuido debido a la pérdida de sensibilidad del parásito frente a esta droga, razón por la cual los resultados de este estudio muestran que la deltametrina presenta una mayor eficacia en el control del parásito.

En el presente estudio se encontraron diferencias significativas entre las proporciones de juveniles de ambos grupos en el MPJ, siendo más alta la proporción del grupo tratado con deltametrina, mostrando que este fármaco presenta un menor efecto antiparasitario sobre los estadios juveniles que sobre los adultos, lo que concuerda con lo descrito por Roth (2000), donde hace mención a que la deltametrina actúa sólo sobre los estadios adultos.

Si comparamos las cargas parasitarias post tratamiento de peces tratados con una droga que elimina todos los estadios parasitarios con otra que solo actúa sobre los adultos, como es el caso de deltametrina, notaremos que al utilizar esta última, es muy probable que los peces presenten cargas parasitarias elevadas en un menor tiempo, ya que los parásitos juveniles que queden como remanente sobre el pez, aportarán un porcentaje a la carga total. Además, la presencia de estadios adultos postratamiento será más temprana, debido a que

los parásitos juveniles remanentes demorarán menos tiempo que los copepoditos infestantes en alcanzar el estadio adulto. Estas situaciones obligan a reducir el intervalo de tiempo entre los tratamientos, aumentando los costos por este concepto. Rae (2002), describe que los costos por estrés y pérdida de crecimiento alcanzan un 80% de las pérdidas originadas por el piojo de mar, mientras que el 20% restante es atribuido a los costos de los tratamientos. En este caso, es difícil estimar cuánto aumentarán los costos debido a un mayor número de tratamientos, siendo necesario un estudio específico sobre este tema. Otro factor importante a considerar, es que a una mayor frecuencia de tratamientos aumenta la probabilidad de crear resistencia por parte de los parásitos (Nari y Fiel, 1994; Jackson y Coop, 2000; Fiel *et al.*, 2001), esta situación es de especial cuidado en Chile, debido a que ya existen antecedentes de pérdida de sensibilidad frente al benzoato de emamectina (Bravo *et al.*, 2008). Además, se sugiere que los tratamientos aplicados a través de baños, como es el caso de los piretroides, pueden ser más estresantes que los administrados a través de la comida, esto sumado a una mayor frecuencia de aplicación puede aumentar el nivel de susceptibilidad de los peces frente a enfermedades como SRS o ISA. Por último, se estima que los puntos anteriormente expuestos serían importantes de considerar a la hora de crear un plan de manejo y control integral de la caligidosis.

Centro

Esta variable explica la variación entre las cargas y proporciones que se puede atribuir a un conjunto único de variables (como manejos, alimentación, estatus sanitario, corrientes, diferencias genéticas, etc.) que se agrupan dentro de cada centro. El alto valor de la suma de cuadrado de los modelos nos muestra que esta variable está explicando un gran porcentaje de la variabilidad de los modelos, lo que nos indica que es muy importante poseer una mirada holística del centro de cultivo, cuando se pretende controlar al piojo de mar, y no enfocarse sólo en algunas variables, recordando que cada centro es una unidad única. Estos resultados coinciden con un estudio epidemiológico de corte transversal sobre las cargas de *C. rogercresseyi* a nivel nacional, realizado por Yatabe (2009), donde esta variable explica un 71% de la varianza total.

Tiempo

Las comparaciones a través del tiempo realizadas en ambos modelos, dentro de cada grupo de tratamiento, resultaron no ser significativas, indicando que cada grupo de tratamiento dentro si mismo, mantiene un número proporcional de estadios y cargas parasitarias totales a través del tiempo. Estos resultados pueden deberse a que el tiempo abarcado por el estudio es reducido, en comparación con otros análisis epidemiológicos del piojo de mar realizados, los cuales a lo menos abarcan un período de dos años (Heuch *et al.* 2003; Revie *et al.*, 2003; Zagmutt-Vergara *et al.*, 2005; Lees *et al.*, 2008a). Heuch *et al.* (2003) desarrollaron un estudio en que compararon una gran base de datos sobre la carga parasitaria de *L. salmonis* en Noruega y Escocia, encontrando que en ambos países existen peaks de estadios juveniles y adultos durante las diferentes estaciones del año. Las alzas de los estadios juveniles generalmente son en verano para ambos países, mientras que las del estadio adulto variaron según el país de referencia, lo que causaría modificaciones en las proporciones de juveniles durante el año.

Medias de los grupos

MCT

Las cargas medias de parásitos totales por grupo de tratamiento son 7,77 y 8,25 parásitos por pez para deltametrina y emamectina respectivamente, con una media para los dos grupos de 8,01 parásitos por pez. Estos valores son menores a los registrados en el DGJA de agosto del año 2007, los cuales fueron de 11,9 parásitos totales por pez para todas las especies, siendo 13,8 y 13,9 parásitos totales por pez para salmón del Atlántico y trucha arco iris respectivamente, sobre un total de 292 centros de cultivo (Hamilton-West *et al.*, 2008). Si comparamos los valores obtenidos en el presente trabajo con la media para todas las especies del DGJA se identifica una disminución de un 33% aproximadamente, mientras que si lo hacemos con los valores obtenidos para trucha arco iris y salmón del Atlántico, que son las especies utilizadas en el presente estudio, nos encontramos con una disminución de aproximadamente un 42%. Por otra parte, si revisamos el umbral de tratamiento que se mantenía hasta el año 2004, el cual era de 5 *Caligus* totales por pez (Rozas y Asencio, 2007), (actualmente no se ha definido oficialmente un umbral de tratamiento)

nos damos cuenta que las medias de los grupos se encuentran por sobre este valor en un 60% aproximadamente.

Las medidas aplicadas en otros países para el control del piojo de mar, se basan no solo en la terapia farmacológica, sino también en manejos, logrando una disminución de las cargas en un alto porcentaje. Un ejemplo de esto es el caso de Escocia, el cual cuenta con un programa de manejo de salud integrado, manteniendo reducidos niveles de piojos de mar (Lees *et al.*, 2008a). Entre las medidas que componen este programa encontramos: sitios con stock de peces de una única generación, períodos de descanso entre ciclos de producción, monitoreos de rutina de la abundancia de piojo de mar e implementación de áreas de manejo (AMAs) con el fin de coordinar las medidas y esfuerzos enfocados a disminuir las cargas de piojo de mar de los centros pertenecientes a éstas (Lees *et al.*, 2008a). En Chile no se ha implementado un plan de control y manejo integral oficial (Bravo *et al.*, 2008), sólo existen, por parte de las autoridades, medidas relacionadas con algunos temas respecto al control (monitoreo e introducción de antiparasitarios), y sugerencias sobre el manejo de los centros, las cuales no presentan ningún tipo de fiscalización, (salvo la autorización y notificación del uso de deltametrina). De esta forma, no existe una normativa sobre los manejos de los centros de cultivo, lo cual ayudaría a implementar medidas como: períodos de descanso de los centros de engorda y smoltificación, ayudando a disminuir la presión de infestación de las siembras; e introducción de una generación de peces por ciclo productivo, lo que contribuye a manejar los períodos de descanso y evitar la exposición de los smolt a altas presiones de infestación, debidas a las cargas parasitarias que pudiesen presentar peces de mayores pesos de jaulas vecinas. Un intento de implementar medidas de manejo a nivel nacional, fue la creación de áreas de manejo, las que se implementaron oficialmente en el año 2007, contando con 10 zonas productivo-ambientales, las cuales se dividen en 36 sub-zonas (Hamilton-West *et al.*, 2008). Estas no han logrado desarrollar un rol importante respecto al control del piojo de mar, siendo uno de sus principales objetivos coordinar los esfuerzos para disminuir la abundancia de *Caligus* dentro de cada sub-zona, lo al se esperaba ver reflejado en parte, en la coordinación de los tratamientos de

cada sub-zona, lo que no ha sido posible hasta la fecha ². Existe una falta de confianza entre la industria privada y la institución gubernamental encargada de estos temas, lo que dificulta la creación e implementación de estrategias de control en conjunto.

MPJ

Lees *et al.* (2008a) realizaron un estudio donde calcularon las medias para las cargas de chalimus y adultos móviles de *L. salmonis* para el primer y segundo año de producción entre los años 2002-2006, los antiparasitarios mayormente utilizados dentro del período de estudio actuaban sobre todos los estadios. Con las medias se calcularon las proporciones de juveniles para cada año de producción, siendo 0,3 para el primer año y 0,26 para el segundo. Al comparar estas proporciones con las obtenidas en el presente estudio, 0,317 y 0,475 para el grupo tratado con emamectina y deltametrina respectivamente, podemos distinguir que el grupo tratado con emamectina se encuentra muy próximo al rango de los valores del trabajo de Lees *et al.*, mientras que el tratado con deltametrina está por sobre estos. Lo anterior concuerda con el presente estudio en que las proporciones de juveniles se mantienen en valores próximos a 0,3 cuando los peces son tratados con antiparasitarios que actúan sobre todos los estadios parasitarios.

Comentarios sobre los tratamientos farmacológicos

En Escocia el control del parásito ha sido relativamente exitoso en los últimos años, como se mencionó con anterioridad; los fármacos utilizados entre el período 2002-2006 fueron casi exclusivamente cipermetrina y benzoato de emamectina (Lees *et al.*, 2008a). Cipermetrina es un piretroide que actúa sobre todos los estadios parasitarios de *L. salmonis* (Hart *et al.*, 1997; Sevatdal *et al.*, 2005) y es aplicado en forma de baño, representando una buena alternativa de tratamiento a introducir en Chile, ya que su acción antiparasitaria es amplia y su efectividad ha sido probada en Escocia. La limitante de este fármaco es que pertenece al grupo de los piretroides, al igual que deltametrina, aumentando el riesgo de crear resistencia frente a este grupo (Bravo *et al.*, 2008). En un estudio

² VALDÉS, P. 2009. [comunicación personal]. Servicio Nacional de Pesca. Unidad de Acuicultura.

realizado por Sevatdal *et al.* (2005) en centros que presentaban reportes de tratamientos fallidos con deltametrina, high-*cis*-cipermetrina y cipermetrina, no se encontró una asociación significativa entre los centros que presentaban disminución de sensibilidad frente a uno u otro fármaco. Los bioensayos realizados no revelaron pérdida de sensibilidad de los parásitos frente a cipermetrina, mientras que para high-*cis*-cipermetrina y deltametrina si se detectó una pérdida de sensibilidad.

Otra alternativa de tratamiento a introducir en el país es teflubenzuron, fármaco perteneciente al grupo de las benzoil-fenil ureas, conocidas comúnmente como reguladores del crecimiento, ya que contienen un inhibidor de la síntesis de quitina, el cual actúa sobre los estadios que presentan muda (Rae, 2002), y que se administra de forma oral junto al alimento por un período de 7 días (Roth, 2000). Branson *et al.* (2000) describen que posee un efecto residual por sobre los 22 días. Al actuar sólo sobre los estadios juveniles y planctónicos, se convierte en una opción menos favorable que cipermetrina.

En el primer semestre 2009 se ha introdujo al país un nuevo fármaco, diflubenzuron, que es otro regulador del crecimiento, el cual comparte la forma de administración con teflubenzuron, pero los tratamientos se extienden a 14 días (Rae, 2002).

Azamethiphos es un organofosforado bastante moderno, que se aplica en forma de baño, el cual no actúa sobre los estadios juveniles, presentando resistencia cruzada con diclorvos (Rae, 2002). También representa una alternativa a introducir en el país, un poco más conveniente que teflubenzuron, ya que actúa sobre los estadios adultos, los cuales son los más dañinos para los peces, pero con una forma de aplicación más estresante (Nolan *et al.*, 1999; Wagner *et al.*, 2007)

La evaluación de la efectividad de los tratamientos aplicados para controlar la caligidosis con datos de terreno, es compleja, ya que se hace necesario aislar lo más posible el efecto del fármaco en un escenario donde existen muchos factores que influyen sobre las cargas, pero a la vez necesaria dentro del escenario sanitario de la salmonicultura en Chile.

CONCLUSIONES

- Los resultados del presente estudio muestran que deltametrina y benzoato de emamectina no poseen los mismos efectos antiparasitarios sobre los estadios juveniles, presentando deltametrina una acción disminuida sobre este estadio, respecto a emamectina.
- Deltametrina mostró en el presente estudio, una mayor eficacia en el control de la carga parasitaria total que emamectina.
- Se encontró una asociación positiva entre la covariable peso promedio de los peces y los recuentos de cargas totales de los centros estudiados.
- En los 52 centros estudiados las cargas totales de *Caligus* han disminuido en un 42% aproximadamente en comparación con el último DGJA realizado antes del período de estudio.

RECOMENDACIONES

- Tomar medidas que logren unificar los esfuerzos frente al control del parásito, utilizando políticas que integren e identifiquen a los centros con su zona y sub-zona productivo-ambiental. Una forma de lograr este objetivo puede ser a través del nombramiento de un encargado de SERNAPESCA por sub-zona, que se responsabilice por la unificación de los centros de dicha sub-zona, coordinando reuniones, creando un ambiente de trabajo en conjunto, etc.
- Que la coordinación de los tratamientos sea abordada con áreas geográficas menores a una sub zona, para que después de logrado esto, se pueda generalizar a una sub zona.
- Crear un sistema de fiscalización de las normas y medidas dictadas por SERNAPESCA.
- Inculcar en los miembros de la industria el uso de manejos como: separación por clase anual de peces o sitios con stock de peces de una única generación, y períodos de descanso del centro entre una cosecha y siembra de peces.
- La introducción de nuevos antiparasitarios que actúen sobre todos los estadios parasitarios o en su defecto sobre el estadio adulto, ya que es el que provoca mayor daño al pez. Cipermetrina se muestra como una buena alternativa, ya que actúa sobre todos los estadios parasitarios y ha sido probada con éxito en el control de *L. salmonis* en Escocia.
- Realizar una rotación de los distintos principios activos, para prevenir la resistencia de los parásitos frente a estos.
- El desarrollo de cepas de *C. rogercresseyi*, que no presenten resistencia frente a los fármacos utilizados en la actualidad en Chile, las cuales se mantengan viviendo bajo condiciones de laboratorio, para poder realizar estudios de sensibilidad.
- Realizar estudios locales para poder tomar medidas y decisiones basadas en la realidad nacional.
- Realizar estudios de campo de los fármacos utilizados para el control del piojo de mar en Chile.

BIBLIOGRAFÍA

- **BOXASPEN, K.** 1997. Geographical and temporal variation in abundance of salmon lice (*Lepeophtheirus salmonis*) on salmon (*Salmo salar* L.). ICES J Mar Sci 54:1144–1147
- **BOXSHALL, G.; BRAVO, S.** 2000. On the identity of the common *Caligus* (Copepoda: Siphonostomatoida: Caligidae) from salmonid netpen systems in southern Chile. Contrib. Zool. 69: 137-146.
- **BRANSON, E.J.; RONSBERG, S.S.; RITCHIE, G.** 2000. Efficacy of teflubenzuron (Calicide) for the treatment of sea lice, *Lepeophtheirus salmonis* (Krøyer 1838)[sic], infestations of farmed Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). Aquacul. Res. 31: 861-867.
- **BRAVO, S.; SEVATDAL, S.; HORSBERG, T.** 2008. Sensitivity assessment of *Caligus rogercresseyi* to emamectin benzoate in Chile. Aquaculture. 282: 7-12.
- **CHILE. Servicio Nacional de Pesca.** 2007. Instructivo monitoreo quincenal.
- **COSTELLO, M.** 2006. Ecology of sea lice parasitic on farmed and wild fish. Trends Parasitol. 22: 475-483.
- **DAVIES, I.; RODGER, G.** 2000. A review of the use of ivermectin as a treatment for sea lice [*Lepeophtheirus salmonis* (Krøyer) and *Caligus elongatus* (Nordmann)] infestation in farmed Atlantic salmon *Salmo salar* L. Aquacult. Res. 31: 869–883.
- **DOHOO, I.; MARTIN, W.; STRYHN, H.** 2003. Veterinary epidemiologic research. AVC Inc. Prince Edward Island, Canadá. 706 p.
- **FARIAS, D.** 2005. Aspectos biológicos y conductuales del estadio infectante de *Caligus rogercresseyi* Boxshall & Bravo 2000 (Copepoda: Caligidae), en peces nativos y de cultivo de Chile. Tesis Biología Marina. Valdivia, Chile. Univ. Austral de Chile.
- **FIEL, C.A.; SAUMELL, C.A.; STEFFAN, P.E.; RODRIGEZ, E.M.** 2001. Resistance of *Cooperia* to ivermectin treatments in grazing cattle of the Humid Pampa, Argentina. Vet. Parasitol. 97:211-217.
- **GLOVER K.A.; NILSEN F.; SKAALA O.** 2004. Individual variation in sea lice (*Lepeophtheirus salmonis*) infection on Atlantic salmon (*Salmo salar*). Aquaculture. 241: 701-709.
- **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.
- **GONZÁLEZ, M.** 2006. Selectividad del copepodito de *Caligus rogercresseyi* Boxshall & Bravo, 2000 (Copepoda: Caligidae) frente a diferentes hospederos. Tesis de grado para optar al título de Biólogo Marino. Puerto Montt, Chile. Univ. Austral de Chile. pp. 6; 30-32; 37.
- **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. In: 7th International Sea Lice Conference. Puerto Varas, Chile. 31 marzo, 1 abril 2008. U. Austral de Chile; University of Strathclyde Glasgow; Fondo de Fomento al Desarrollo Científico y Tecnológico (Fondef); INTESAL. pp 37-38
- **HART, J.L.; THACKER, J.R.M.; BRAIDWOD, J.C.; FRASER, N.R.; MATTHEWS, J.E.** 1997. Novel cypermethrin formulation for the control of sea lice on salmon (*Salmon salar*). *Vet. Rec.* 140:179-181.
- **HEUCH, P.A.; REVIE, C.W.; GETTINBY G.** 2003. A comparison of epidemiological patterns of salmon lice, *Lepeophtheirus salmonis*, infections on farmed Atlantic salmon, *Salmo salar* L., in Norway and Scotland. *J. Fish Dis.* 26: 539-551.
- **INFOSTAT.** 2008. Manual del Usuario. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba. Primera Edición, Editorial Brujas Argentina. 66 p.
- **JACKSON, F.; COOP, R.** 2000. The development of anthelmintic resistance in sheep nematodes. *Parasitology.* 120:95-107.
- **JOHNSON, S.C.; ALBRIGHT, L.J.** 1991 Development, growth, and survival of *Lepeophtheirus salmonis* (Copepoda: Caligidae) under laboratory conditions. *J Mar Biol Assoc UK.* 71:425–436
- **JOHNSON, S.C.; ALBRIGHT, L.J.** 1992. 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.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.

- **LEES, F.; GETTINBY, G.; REVIE, C.W.** 2008a. Changes in epidemiological patterns of sea lice infestation on farmed Atlantic salmon, *Salmo salar* L., in Scotland between 1996 and 2006. *J. Fish Dis.* 31: 259-268.
- **LEES, F.; BAILLIE, M.; GETTINBY, G.; REVIE, C.W.** 2008b. Factors associated with changing efficacy of emamectin benzoate against infestations of *Lepeophtheirus salmonis* on scottish salmon farm. *J. Fish Dis.* 31: 947-951
- **MACKINNON, B. M.** 1998. Host factors important in sea lice infections. *ICES J. Mar. Sci.* 55: 188-192.
- **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.
- **NARI, A.; FIEL, C.** 1994. Enfermedades parasitarias de importancia económica en bovinos. Editorial Hemisferio Sur, Montevideo, Uruguay. 37 p.
- **NOLAN, D.T.; REILLY, P.; WENDELAAR BONGA, S.E.** 1999. Infection with low numbers of the sea louse *Lepeophtheirus salmonis* induces stress-related effects in postsmolt Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 56, 947–959
- **PÉREZ-LÓPEZ, C.** 2005. Métodos estadísticos avanzados con SPSS. Thomson editores. Madrid, España. pp. 323-324.
- **RAE, G. H.** 2002. Sea louse control in Scotland, past and present. *Pest Manag. Sci.* 58:515-520.
- **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.
- **ROBERTS, T.R.; HUTSON, D.H.,** 1999. Methabolic Pathways of Agrochemicals. The Royal Society of Chemistry, UK. pp. 87; 638.
- **ROTH, M.** 2000. The availability and use of chemotherapeutic sea lice control products. *Contrib. Zool.* 69: 109-118.
- **ROZAS, M.; ASCENCIO, G.** 2007. Evaluación de la situación epidemiológica de la caligiasis en Chile: hacia una estrategia de control efectiva. *Salmociencia.* 2: 43-59.
- **SEVATDAL, S.; HORSBERG, T.E.** 2003. Determination of reduced sensitivity in sea lice (*Lepeophtheirus salmonis* Kroyer) against the pyrethroid deltamethrin using bioassays and probit modelling. *Aquaculture.* 218: 21-31.
- **SEVATDAL, S.; COPLEY, L.; WALLACE, C.; JACKSON, D.; HORSBERG, T. E.** 2005. Monitoring of the sensitivity of sea lice (*Lepeophtheirus salmonis*) to

pyrethroids in Norway, Ireland and Scotland using bioassays and probit modelling. *Aquaculture*. 244: 19-27.

– **STONE, J.; SUTHERLAND, I.H.; SOMMERMVILLE, C.; RICHARDS, R.H.; VARMA, K.J.** 1999. The efficacy of emamectin benzoate as an oral treatment of sea lice, *Lepeophtheirus salmonis* (Krøyer) infestation in Atlantic salmon, *Salmo salar* L. *J. Fish Dis.* 22: 261–270.

– **STONE, J.; SUTHERLAND, I.H.; SOMMERMVILLE, C. ; RICHARDS, R.H. ; VARMA, K.J.**, 2000. Field trials to evaluate the efficacy of emamectin benzoate in the control of sea lice, *Lepeophtheirus salmonis* (Krøyer) and *Caligus elongatus* (Nordmann) infestation in Atlantic salmon, *Salmo salar* L. *Aquaculture* 186: 205–219.

– **TUCKER, C.S.; SOMMERMVILLE, C.; WOOTTEN, R.** 2000. The effect of temperature and salinity on the settlement and survival of copepodids of *Lepeophtheirus salmonis* (Krøyer, 1837). *J. Fish Dis.* 23: 309-320.

– **TUCKER, C. S.; SOMMERMVILLE, 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

– **TULLY, O.** 1989. The succession of generations and growth of the caligid copepods *Caligus elongatus* and *Lepeophtheirus salmonis* parasitizing farmed Atlantic salmon smolts (*Salmo salar* L.). *J Mar Biol Assoc. UK* 69:279–288

– **UNIVERSIDAD DE CÁDIZ.** 2002. Guía para el análisis de datos SPSS. [en línea]<<http://www2.uca.es/serv/ai/formacion/spss/Pantalla/verguia.pdf>> [consulta: 12-12-2009]

– **WADSWORTH, S.L.** 1998. The control of *Lepeophtheirus salmonis* (Copepoda: caligidae) (Kroyer, 1837) on Atlantic salmon *Salmo salar* L. Production sites. PhD thesis, Dept of Zoology, Univ. Of Aberdeen.

– **WAGNER, G.N.; FAST, M.D.; JOHNSON S.C.** 2007. Physiology and immunology of *Lepeophtheirus salmonis* infections of salmonids. *Trends Parasitol.* 24: 176-183.

– **YATABE, T.** 2009. Análisis de factores de riesgo para niveles de caligidosis (*Caligus rogercresseyi*), en salmónidos cultivados en el sur de Chile. Tesis de grado para optar al título de Médico Veterinario. Santiago, Chile. Univ. de Chile. pp. 21-27; 32-38.

– **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.