



ECOWATER INNOVA. Inhibidores Dinámicos.

TRATAMIENTOS BIOLÓGICOS. Control de invasiones de moluscos bivalvos.

(Detalles e información de la evolución, uso y resultados, del primer molusquicida biológico del mercado)

Las consecuencias de las invasiones masivas de moluscos bivalvos en instalaciones de generación de energía, agrícolas, y sectores sensibles como el consumo de agua para beber y en la cadena productiva de miles de empresas de los más diversos sectores, en más de 85 países, no están siendo mostradas con la transparencia suficiente. A pesar de esta opacidad, los datos disponibles permiten evaluar que los costes por mantenimiento y perdidas por operaciones, se sitúan por encima de 545.000 millones de Euros en todo el mundo.



¿Es asumible un coste de estas dimensiones, especialmente delicado para el sector agrícola, dado el frágil margen del coste/beneficio, en que habitualmente se mueve? ¿Qué impacto ambiental supone utilizar periódicamente miles de toneladas de pesticidas y productos químicos altamente tóxicos para tratar de controlar las invasiones de especies alóctonas acuáticas??

Los numerosos procesos empleados actualmente, generalmente utilizan, equipos y productos que afectan, alteran y contaminan, el medio acuático y las diferentes especies presentes el ecosistema acuático, de forma inequívoca.

Desde hace años, se están utilizando métodos de control de bivalvos invasores mediante productos tóxicos y contaminantes. Las infraestructuras dependientes del agua cruda infestadas, están administrando dosis cada vez más importantes, dada la resistencia cada vez mayor de los mejillones invasores a estos pesticidas.

Aunque tales productos, contaminantes del agua, cumplen con los límites regulatorios, una vez conocidos los impactos negativos (composición intrínseca del producto, mala praxis y falta de control en las dosificaciones) tanto en la degradación de las condiciones físico químicas, como en las especies no objetivo, las autoridades de la Unión Europea, están reexaminando el uso de los pesticidas químicos en el control de invasiones acuáticas



ECOWATER TECHNOLOGIES, S.L. Real,41 2º Of. 9 11300- La Línea de la Concepción-CADIZ
Mediterrani, 16 46980-Paterna-VALENCIA

Tlf.: +34856910236 +34 960815545- +34 622677255- +34 622623723

Email ecowatervalencia@gmail.com

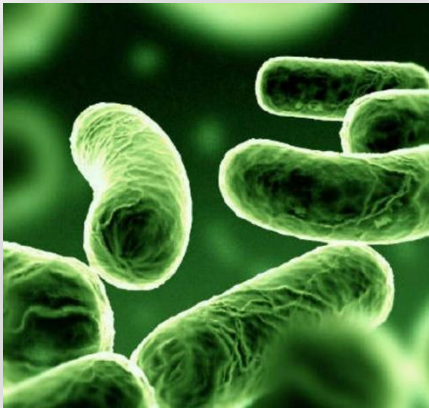
Web: <http://ecowatertechnologies.weebly.com/>



La cloración, por ejemplo, es un método de control común, y cuando el cloro se combina con compuestos orgánicos en el agua, se forman sustancias potencialmente cancerígenas como trihalometanos y dioxinas (Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos).

Las directivas europeas, limitan de forma clara el uso de biocidas químicos. El incumplimiento de estas normativas por las empresas que dependen de la utilización de aguas superficiales por razones operativas en la cadena productiva, seguramente experimentarán graves sanciones económicas. Por lo tanto, la disponibilidad de un método biológico altamente eficiente, inocuo y mucho más benigno para el medio ambiente, es una de las alternativas, para las industrias con instalaciones infestadas

BIOTECNOLOGIA DISPONIBLE. Paradigma de investigación



Un microbio no parasitario, no infeccioso como es la bacteria del suelo *Pseudomonas protegens* se presenta como la principal estrategia innovadora en el control de mejillones invasores.

Es ampliamente aceptado que la detección de bioquímicos encontrados en especies de plantas tropicales es una actividad que ha valido la pena debido al descubrimiento de medicamentos que pueden prevenir o curar enfermedades animales, particularmente cánceres.

Sin embargo, la producción de estos productos bioquímicos no evolucionó como debería ser en este propósito, y el efecto de estas sustancias vegetales

en las enfermedades animales, aunque fortuito, es pura coincidencia.

Usando la misma lógica, también podemos buscar en los microorganismos bioquímicos que tengan el potencial de ser biopesticida altamente selectivos. De hecho, el uso de toxinas microbianas ya tiene un historial claro de éxito comercial y seguridad ambiental en el control de plagas de invertebrados a nivel mundial.



ECOWATER TECHNOLOGIES, S.L. Real,41 2º Of. 9 11300- La Línea de la Concepción-CADIZ
Mediterrani, 16 46980-Paterna-VALENCIA

Tlf.: +34856910236 +34 960815545- +34 622677255- +34 622623723

Email ecowatervalencia@gmail.com

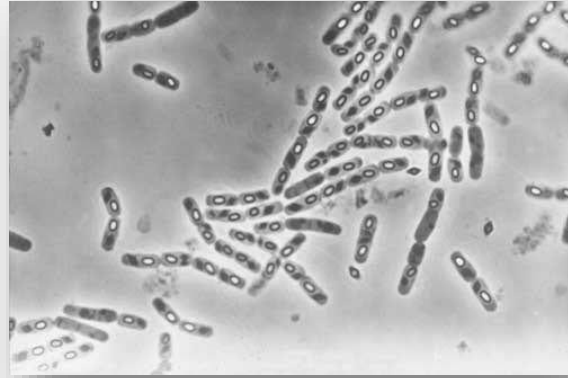
Web: <http://ecowatertechnologies.weebly.com/>



Participación previa en el éxito comercial

Bacillus thuringiensis subsp. israelensis:

El primer agente de control biológico para las moscas negras (Simuliidae). Esta bacteria, debido a su extraordinaria seguridad y selectividad en no objetivos, ahora ha reemplazado completamente a los pesticidas químicos. El uso comercial de este agente microbiano es usado a gran escala; grandes cuerpos de agua, son tratados de forma rutinaria con esta especie bacteriana para controlar las poblaciones de larvas de moscas negras.



¿COMO SURGE ZEQUANOX? Desarrollo y Progreso de la investigación

1.991.- La Empire State Electric Energy Research Corporation (ESEERCO1), ante la amenaza que supuso la incrustación de mejillones cebra en las instalaciones de energía eléctrica en el estado de Nueva York, llegó a un acuerdo con el Laboratorio de Investigación de Campo NYSM, para realizar la detección de bacterias como posibles agentes de control biológico.

Basado en el desarrollo exitoso del agente de control biológico ambientalmente seguro para las larvas de la mosca negra acuática, el investigador Daniel P. Molloy, planteó la hipótesis de que también existían bacterias en la naturaleza cuyas toxinas podrían usarse como agentes letales para estas nuevas plagas acuáticas, mejillones cebra y quagga. Los esfuerzos de investigación demostraron que esta hipótesis era cierta.



Extensos ensayos de laboratorio de detección de más de 700 cepas bacterianas identificaron y consiguieron aislar la cepa CL145A de Pseudomonas protegens, que es letal para estos mejillones.

De las 10 cepas de P. protegens que se probaron en el laboratorio, solo se encontró que la CL145A era altamente letal, es decir, en dosis que produjeron >



ECOWATER TECHNOLOGIES, S.L. Real,41 2º Of. 9 11300- La Línea de la Concepción-CADIZ
Mediterrani, 16 46980-Paterna-VALENCIA

Tlf.: +34856910236 +34 960815545- +34 622677255- +34 622623723

Email ecowatervalencia@gmail.com

Web: <http://ecowatertechnologies.weebly.com/>



90% de mortalidad del mejillón, las otras 9 cepas de *P. protegens* causaron solo el 0-11% de mortalidad.

1. Células individuales de *P. protegens*.

Las *Pseudomonas protegens* tienen una distribución mundial. Es una especie bacteriana inofensiva que actúa protegiendo las raíces de las plantas de la podredumbre y el moho. Sin embargo, la investigación demostró que la cepa CL145A de esta especie, puede usarse para otro propósito: el control de *Dreissena* spp.



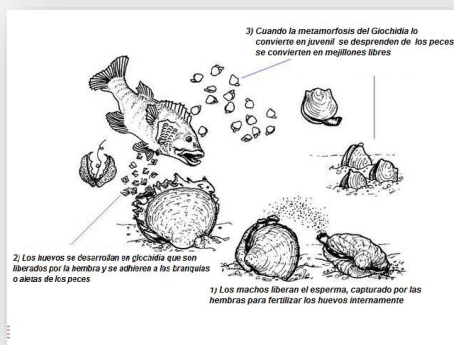
2. Los mejillones mueren por una toxina natural: las bacterias muertas también son letales.

Aunque el fitoplancton es su alimento preferido, los mejillones *Dreissena* pueden filtrar y consumir bacterias como fuente de alimento. Sin embargo, cuando un mejillón cebra o quagga ingiere la cepa CL145A, (ZEQUANOX) una toxina (metabolito secundario inestable al calor y una toxicidad degradable en 24 h cuando se aplica al agua), destruye el sistema digestivo del mejillón.

La cepa CL145A (ZEQUANOX) es inusual en *P. protegens*, ya que es la única entre las diez cepas evaluada, durante el proceso de investigación que produce una alta mortalidad en los mejillones.

Las células muertas son tan letales como las células vivas, lo que proporciona una clara evidencia de que los mejillones mueren por una toxina, no por una infección.

3. Alimentación de mejillones: las bacterias se ingieren fácilmente



Aunque la ingestión de células CL145A (ZEQUANOX) es claramente un comportamiento suicida para los mejillones *Dreissena*, estos no tienen una reacción adversa para alimentarse de las células que son filtradas normalmente a lo largo de un tratamiento típico de entre 2 y 6 horas de duración.

Por el contrario, los biocidas, como el cloro, que se utilizan actualmente para el control del mejillón hacen que cierren rápidamente sus



válvulas, ya que los mejillones perciben un efecto adverso.

El empleo de cloro y otros productos químicos tóxicos, además del impacto en el agua y especies no objetivo, requiere períodos de cloración más prolongados, con tratamientos continuos de tres semanas o más. La aceptación de las células CL145A (ZEQUANOX) como alimento bacteriano "normal" por estos mejillones facilita el uso de este microbio como el principal agente de Bio control.

4. Tamaño del mejillón: Todas las fases del mejillón son afectadas.

Todos los tamaños de mejillón Dreissena (tamaño, ca. 1-25 mm) son susceptibles a la muerte por CL145A (ZEQUANOX) Por lo tanto, P. protegens es eficiente, independientemente del tamaño del mejillón, incluyendo la fase planctónica.

5. Especies de mejillones

La bacteria puede matar mejillones cebra (*Dreissena polymorpha*) y mejillones quagga (*Dreissena rostriformis bugensis*), dos de las especies invasoras más activas y dañinas, en porcentajes superiores del 100% en la primera y 98% en la segunda.

6. Dureza del agua: la eliminación de mejillones es más alta en aguas duras: el hábitat preferido del mejillón Dreissena

Los tratamientos bacterianos pueden tener una eficacia menor en aguas blandas con valores de pH inferiores a ca. 7.4. Los mejillones Dreissena, sin embargo, rara vez alcanzan altas densidades de población en tales aguas (casi neutras o ácidas) y, por lo tanto, las infraestructuras infestadas generalmente tendrán aguas alcalinas donde la eficacia bacteriana no se verá afectada.

Oxígeno disuelto: Altos los niveles de oxígeno garantizan mayor mortalidad.

Niveles muy bajos de oxígeno (<2 ppm) pueden dar como resultado una disminución del 20% (por ejemplo, 80% frente al 100%) en la muerte del mejillón. Esto se debe a una menor actividad y alimentación por parte de los mejillones en condiciones bajas en oxígeno. Por lo tanto, siempre que sea posible, los tratamientos bacterianos deben realizarse en aguas con alto contenido de oxígeno disuelto, el ambiente preferido de los mejillones Dreissena.

8. Temperatura del agua: mayor mortalidad a temperaturas más cálidas

La susceptibilidad aumenta con la temperatura del agua, con > 98% de mortalidad de mejillones cebra a 23°C. Con temperaturas más bajas (7 °C) aún podemos lograr una alta mortalidad por encima del 80%, lo que indica que las bacterias son realmente más efectivas a temperaturas más bajas que los productos químicos actualmente utilizados para el control de Dreissena.



ECOWATER TECHNOLOGIES, S.L. Real,41 2º Of. 9 11300- La Línea de la Concepción-CADIZ

Mediterrani, 16 46980-Patterna-VALENCIA

Tlf.: +34856910236 +34 960815545- +34 622677255- +34 622623723

Email ecowatervalencia@gmail.com

Web: <http://ecowatertechnologies.weebly.com/>



Los últimos biocidas comerciales, por ejemplo, el cloro, no pueden lograr una muerte tan alta del mejillón por debajo de aproximadamente 10°C, lo que limita su aplicación a los períodos de agua cálida o tibia.

Los mejillones mueren más rápidamente a temperaturas de agua más altas, y todas las muertes generalmente se logran dentro de las dos semanas a 23°C y dos meses a 7°C.

9. Partículas en suspensión: Evitar el tratamiento en períodos con cargas de partículas muy altas para garantizar la mayor mortalidad

Con niveles altos de partículas naturales en el agua (p. Ej., Lodo suspendido a más de 100 ppm) pueden provocar una disminución del 20% del rendimiento en la eliminación de mejillones. Esto es debido a un desplazamiento competitivo, es decir, una menor alimentación de los mejillones de las bacterias suspendidas frente a las partículas de lodo. Por lo tanto, siempre que sea posible, los tratamientos bacterianos no deberían ocurrir en aguas con altas cargas de partículas.

10. Comportamiento del mejillón: no molestar la alimentación normal del mejillón

En la naturaleza, un mejillón dreissenida separa sus dos conchas separadas y extiende el sifón inhalante para llevar partículas de comida a la cavidad del manto. Después de pasar a través del sistema digestivo, el material fecal se expulsa a través del sifón exhalante. Cuanto más activo es este comportamiento de sifón, mayor será la mortalidad que se logrará con un tratamiento bacteriano. Por lo tanto, cualquier factor de estrés (por ejemplo, vibraciones, sombras) que haga que los mejillones cierren sus caparazones durante el tratamiento probablemente reducirá la mortalidad.

11. Concentración y duración del tratamiento: Tratar durante aproximadamente 6 horas para obtener el mayor nivel de mortalidad.



Tratamientos de 6 horas de 50 ppm (masa bacteriana seca por unidad de volumen) obtienen la mayor mortalidad de mejillones. La exposición de mejillones a duraciones de tratamiento más largas o concentraciones bacterianas más altas, logra un beneficio adicional muy limitado.

12. Ensayos con especímenes no objetivo: especificidad excepcional

El tratamiento biológico es excepcionalmente inocuo con respecto a la seguridad de especies no objetivo. A las dosis que produjeron una alta mortalidad de mejillón cebra (100%), no se registra mortalidad inducida por bacterias entre ninguno de los no objetivos, incluidos peces, ciliados, dafnidos y bivalvos:



ECOWATER TECHNOLOGIES, S.L. Real,41 2º Of. 9 11300- La Línea de la Concepción-CADIZ

Mediterrani, 16 46980-Paterna-VALENCIA

Tlf.: +34856910236 +34 960815545- +34 622677255- +34 622623723

Email ecowatervalencia@gmail.com

Web: <http://ecowatertechnologies.weebly.com/>

ECOWATER TECHNOLOGIES



- **Peces:** no se ha observado mortalidad inducida por biotoxinas en las especies de peces evaluadas, entre ellas: carpa cabezona (*Pimephales promelas*), trucha marrón joven (*Salmo trutta*) pez luna azul (*Lepomis macrochirus*).

Los ensayos en instalaciones verificaron que los peces no pueden tolerar la exposición a altos niveles de bacterias vivas. Sin embargo, los ensayos en peces realizados con bacterias muertas CL145A (ZEQUANOX) indicaron que las aplicaciones de células muertas eran inofensivas para los peces, pero que aún eran muy letales para los mejillones de Dreissena.

- **Ciliados:** los ensayos con *Colpidium colpoda* ciliada de agua dulce común indicaron que las bacterias no solo eran no letales, sino que servían como una fuente de alimento que permitía mayores tasas de reproducción ciliada que los ciliados contenidos en aguas no tratadas.

- **Daphnids:** el microcrustáceo *Daphnia magna* es un alimentador de filtro acuático que ingiere pequeñas partículas en suspensión, incluidas las bacterias, lo que lo convirtieron en un organismo apropiado para las pruebas no objetivo. Los ensayos demostraron que las bacterias no son letales para esta especie.

- **Bivalvos:** las exposiciones bacterianas no causaron mortalidad a los mejillones azules (*Mytilus edulis*) ni a ninguna de las 6 especies nativas de almejas unionidas (*Pyganodon grandis*, *Lasmigona compressa*, *Strophirus undulatus*, *Lampsilis radiata*, *Pyganodon cataracta* y *Elliptio complanata*).

Ningún método actual, puede ofrecer mayores garantías que el método biológico basado en uso de CL145A (ZEQUANOX). Para llevar a cabo los tratamientos, se requiere un nivel de formación adecuado para realizar este, con la garantía del 100% de éxito. Ecowater Technologies, forma a los responsables de control de plagas de las empresas para que el uso del producto obtenga el máximo de rendimiento.



ECOWATER TECHNOLOGIES, S.L. Real,41 2º Of. 9 11300- La Línea de la Concepción-CADIZ

Mediterrani, 16 46980-Patterna-VALENCIA

Tlf.: +34856910236 +34 960815545- +34 622677255- +34 622623723

Email ecowatervalencia@gmail.com

Web: <http://ecowatertechnologies.weebly.com/>