

Efecto de tres pesticidas sobre la mortalidad diferencial intersexual de *Procambarus clarkii* (Girard, 1852) (*Decapoda, Cambaridae*)

Effect of three pesticides on the intersexual mortality of *Procambarus clarkii* (Girard, 1852) (*Decapoda, Cambaridae*)

E. CANO(1) & A. JIMÉNEZ(2)

(1) Departamento de Fisiología y Zoología. Fac. Biología. Univ. Sevilla. Avda. Reina Mercedes, 6. 41012 Sevilla. Email: ecano@us.es

(2) Laboratorio de Entomología Aplicada. Fac. Biología. Univ. Sevilla. Avda. Reina Mercedes, 6. 41012 Sevilla.

Recibido el 5 de julio de 2002. Aceptado el 15 de octubre de 2003.

ISSN: 1130-4251 (2002-2003), vol. 13/14, 145-153

Palabras clave: *Procambarus clarkii*, cangrejo, Malation, Triclorfon, Genapol OX-80, Marismas del Bajo Guadalquivir.

Key words: *Procambarus clarkii*, crayfish, Malathion, Trichlorfon, Genapol OX-80, Guadalquivir river marshes.

RESUMEN

En el cultivo de arroz en las marismas del Bajo Guadalquivir es frecuente el uso de los pesticidas Malation y Malation + Triclorfon al 50%, para combatir las plagas de los planteles del arroz, lo que afecta a las poblaciones de *P. clarkii*. Se ha propuesto un nuevo surfactante, no iónico, Genapol OX-80 (en fase experimental), para contrarrestar los efectos negativos de los cangrejos en las fases iniciales del cultivo de arroz. Los valores LC_{50} (mg/l) obtenidos para Malation fueron 1,06 para hembras, 0,9 para machos y 1,5 para el total (ambos sexos). Los valores LC_{50} (mg/l) para la mezcla, Malation + Triclorfon, fueron 0,93 para las hembras, 0,91 para los machos y 1,11 para el total. Los valores LC_{50} (mg/l) para el surfactante fueron 7,09 para hembras, 6,58 para machos y 6,81 para el total. No existe diferencia significativa ($\alpha=0,05$) entre los valores, de un mismo producto, obtenidos para hembras, machos y el total. El producto menos tóxico es el Genapol, tanto si se compara con los dos insecticidas, como si se tiene en cuenta su dosis de aplicación en campo.

SUMMARY

In rice fields in the Guadalquivir river marshes is usual to apply the pesticides Malathion and Malathion + Trichlorfon 50% mixture to control pests of the young rice seedling, which affects *Procambarus clarkii* populations. A new non ionic surfactant, Genapol OX-80, is proposed to decrease direct damage caused by this crayfish on rice seedling establishment. The LC_{50} (mg/l) values obtained for Malathion were 1.06 for females, 0.9 for males and 1.5 for the total. The LC_{50} (mg/l) values obtained for Malathion + Trichlorfon 50% mixture were 0.93 for females, 0.91 for males and 1.11 for the total. The LC_{50} (mg/l) values obtained for Genapol OX-80 were 7.09 for females, 6.58 for males and 6.81 for the total. The LC_{50} (mg/l) values obtained for females, males and the total, using the same product, were not significantly different ($\alpha = 0.05$). Results indicate that Genapol OX-80 is the less toxic product compared both with the other two insecticides used, and with the field dosis.

INTRODUCCIÓN

Procambarus clarkii (Girard 1852) fue introducido en España en 1974, concretamente en las marismas del Bajo Guadalquivir, en la finca denominada "Casablanca" (provincia de Sevilla) (Habsburgo-Lorena, 1979; Algarín, 1980; Ocete & López, 1983). Desde un principio esta especie presentó una buena aclimatación a las condiciones marismeñas, y su pesca con fines comerciales, para el consumo humano, comenzó en 1979. De hecho, las marismas del Bajo Guadalquivir se han convertido en el primer productor y exportador de este crustáceo (Gaudé, 1984; Cano & Ocete, 1994). La reproducción de *P. clarkii* en las marismas mencionadas puede ocurrir a lo largo de todo el año, dependiendo de la inundación del terreno (Cano & Ocete, 2000). La proporción media de sexos a lo largo del periodo que abarca el cultivo de arroz es favorable a las hembras, aunque sufre oscilaciones, significativas, a lo largo de esta época (Cano & Ocete, 1997), las cuales son debidas al ciclo reproductivo del cangrejo, pues las hembras permanecen inactivas en el periodo reproductivo (Niquette & D'Abramo, 1991), y a factores adicionales tales como la aplicación de pesticidas, en cuyo periodo activo los cangrejos, que sobreviven, permanecen inactivos en sus refugios (Cano & Ocete, 1997).

En las marismas del Bajo Guadalquivir el principal cultivo que se realiza es el del arroz (35.000 ha), el cual se lleva a cabo de forma tradicional, incluyendo fertilizantes y productos fitosanitarios (Aguilar, 2001). Junto con quironómidos y efridas, *Procambarus clarkii* constituye una plaga a su cultivo, pues con su movimiento remueve el suelo lo que provoca un pobre establecimiento de las plántulas de arroz (Grigarick & Way, 1982; Hill *et al.*,

1992; Anastácio & Marques, 1996). Dado que se trata de una zona limítrofe con el Parque Nacional de Doñana, el uso de insecticidas se encuentra muy restringido, los permitidos son Malation y Triclorfon, por su relativa baja toxicidad y moderada persistencia (Stevens, 1991). El Malation o una mezcla, al 50%, de Malation + Triclorfon, suelen ser utilizados en las fases iniciales del cultivo para controlar las plagas que afectan a los planteles del arroz.

La multinacional Hoescht desarrolló un surfactante no iónico (prototipo), Genapol OX-80, con el propósito de reducir la incidencia de los cangrejos en los arrozales. Este nuevo producto actúa reduciendo el rango metabólico de esta especie, lo que provoca que permanezcan inmóviles en el periodo activo del producto (Anastácio *et al.*, 1995; Fonseca *et al.*, 1996). Así pues, en el caso de las marismas del Bajo Guadalquivir el periodo de aplicación coincide con el de los insecticidas tradicionales para controlar las plagas de los planteles.

El estudio del efecto de los insecticidas comúnmente utilizados en las marismas del Bajo Guadalquivir (Malation y mezcla Malation+Triclorfon), y de un nuevo producto que potencialmente podría ser utilizado (Genapol OX-80), sobre la mortalidad diferencial intersexual de *Procambarus clarkii* resulta interesante, pues dependiendo del momento de aplicación del tratamiento químico en el cultivo del arroz, la incidencia sobre la población de cangrejos podría ser distinta, dado que la proporción de sexos en los individuos activos es muy variable a lo largo del cultivo.

MATERIAL Y MÉTODOS

Procambarus clarkii ha sido capturado a lo largo del periodo de cultivo del arroz de 1999 en las marismas del Bajo Guadalquivir, concretamente en la finca "Lara" ubicada en el término municipal de Puebla del Río (U.T.M. 29SQB534246), mediante una trampa pasiva, nasa cangrejera, usada por los pescadores de la zona. Los cangrejos eran transportados al laboratorio, y sometidos a un periodo de adaptación de 48 horas.

Las condiciones de laboratorio fueron de $25 \pm 1^\circ\text{C}$ de temperatura y fotoperiodo de 16:8. El agua utilizada para realizar los ensayos procedía de la red y era mantenida 48 horas con aireación para su dechloración. Durante la realización de los tests los cangrejos se mantenían en ayunas. La concentración de oxígeno disuelto se mantuvo por encima de 6 mg/l. Al principio y al final de cada prueba se medía la dureza total, la conductividad y el pH del agua.

Los tests fueron realizados en acuarios de 35x50x35 cm, con agua a una altura de 10 cm y una duración de 96 horas. La aireación se mantuvo con una

bomba de acuarios de 85 ml/min. Los cangrejos utilizados estaban sexualmente maduros, 6'5 cm de longitud (Cano & Ocete, 1997), se median (desde el extremo del rostro al del telson) y se sexaban según la presencia (en machos) o ausencia (en hembras) del gonopodio.

Los productos activos utilizados, para la realización de las pruebas eran Malation, mezcla de Malation+Triclorfon al 50% y Genapol OX-80 (Tabla I).

Tabla I.— Productos utilizados: nombre comercial, composición química y dosis de aplicación recomendada. El Triclorfon se utilizó mezclado con Malation.

Table I.— Used products: commercial name, chemical composition and recommended field concentration. Trichlorfon was used mixed with Malation.

	% m.a.	D-C/ha
Cekumal 50 LE. Malation [S-(1,2-bis (etoxycarbonil)-etil) 0,0-dimetil phosphoroditioato]	50	1,5 l
Dipterex 80 PS. Triclorfon [0,0-dimetil (2,2-2 tricloro hydroxietyl)-fosfonato] en la mezcla (50 %) de Malation + Triclorfon	80	1,5 Kg
Genapol OX-80. Mezcla éteres poliglicoles de alcoholes grasos-CH ₃ -(CH ₂) ₁₂₋₁₅ -O(CH ₂ CH ₂ O)H	100	2 Kg

Se utilizaron 25 acuarios (cinco replicas/concentración ensayada) para cada caso: machos, hembras y total, entendiéndose por total machos y hembras al 50%. El número de cangrejos usados en cada test de toxicidad fue de 100, utilizando un total de 4.500 ejemplares. Cinco acuarios se utilizaban como control, es decir, se introdujeron cangrejos pero no se realizó ninguna aplicación de productos.

Los cangrejos se consideraban muertos cuando ante un estímulo producido en las antenas o en las patas no se obtenía respuesta. Estos ejemplares eran retirados cada 24 horas.

Los datos de mortalidad para cada producto y caso fueron analizados mediante análisis probit para determinar el valor LC₅₀ a las 96 h, al 95% de intervalo de confianza (Finney 1971, modificado por Nogueira 1995). La toxicidad de cada producto se comparaba a la de otros productos por el cálculo de un rango de la concentración media letal (LC₅₀) para cada producto. Un valor del rango mayor o menor de 1, sugiere que un insecticida es más o menos tóxico que otro insecticida (Mayer & Ellersieck, 1986). La supervivencia se analizó mediante el test ANOVA ($\alpha < 0,05$).

RESULTADOS

Se realizó un test de prueba, de 24 h, para definir las concentraciones que se iban a utilizar en los tests definitivos de 96 h, incluyendo la concentración de campo recomendada para cada uno de los productos dentro del intervalo de valores de concentración que se probaron. Las concentraciones utilizadas en los tests definitivos estuvieron comprendidas entre las que habían obtenido el 0% y el 100% de mortalidad en el test de prueba (Tabla II).

Durante los tests la calidad del agua (Tabla III) se mantuvo en los rangos óptimos para la supervivencia de *Procambarus clarkii* (Cano, 1994), incluso en los acuarios control donde las diferencias de conductividad fueron más patentes.

En la tabla IV aparecen los valores de LC_{50} obtenidos en los distintos tests, los cuales son muy parecidos, no significativos, entre machos, hembras y el total, para un mismo producto.

Tabla II.— Concentraciones (mg/l) de los distintos productos utilizadas para realizar los tests de toxicidad LC_{50} 96 h.

Table II.— Concentrations (mg/l) of the different products used in the 96h LC_{50} toxicity tests.

<i>Malation</i>	<i>Malation+Triclorfon</i>	<i>Genapol OX-080</i>
0	0	0
0,0005	0,05	0,75
0,00075	0,1	2,5
0,001	0,75	5
0,004	1,5	10

Tabla III.— Valores medios (\pm desviación típica) de conductividad, pH y dureza total del agua en los tests LC_{50} 96 h con los distintos productos y en el control.

Table III.— Mean (\pm standard deviation) conductivity, pH and total hardness of water during 96 h LC_{50} determinations for the different products and control treatment.

	Conductividad (μ S) \pm SD		pH \pm SD		Dureza ($^{\circ}$ d) \pm SD	
	0h	96h	0h	96h	0h	96h
Malation	254 \pm 2,24	287 \pm 7,97	7,5 \pm 0,22	7,8 \pm 0,37	9,9 \pm 0,37	10,9 \pm 0,70
Mal.+Tri.	257 \pm 3,80	265 \pm 3,39	7,6 \pm 0,16	8 \pm 0,50	5,7 \pm 0,24	5,6 \pm 0,43
Genapol	273 \pm 3,74	322 \pm 9,92	8 \pm 0,35	7,7 \pm 0,22	7,8 \pm 0,29	8 \pm 0,53
Control	321 \pm 4,63	552 \pm 25,96	7,5 \pm 0,25	8 \pm 0,50	5,5 \pm 0,26	5,5 \pm 0,29

Mal. + Tri. = Malation + Triclorfon

Tabla IV.— Toxicidad de Malation (M) (mg/l), Malation + Triclorfon (M+T) (mg/l) y Genapol OX-80 (G) (mg/l) para *Procambarus clarkii*.

Table IV.— Toxicity of Malathion (M) (mg/l), Malathion + Triclorfon (M+T) (mg/l) and Genapol OX-80 (G) (mg/l) for *Procambarus clarkii*.

	Malation	Malation+	Genapol	LC ₅₀ /DC			Rango		
	LC ₅₀ ± SD	Triclorfon	LC ₅₀ ± SD	M	M+T	G	M/G	M/M+T	G/M+T
Hembras	1,06 ± 0,18	0,93 ± 0,16	7,09 ± 0,04	0,7	0,41	1,35	0,149	1,14	7,624
Machos	0,9 ± 0,13	0,91 ± 0,1	6,58 ± 0,04	0,6	0,4	1,25	0,137	0,99	7,231
Total	1,5 ± 0,11	1,11 ± 0,1	6,81 ± 0,03	1	0,49	1,3	0,22	1,351	6,135

Según el rango existente entre los valores de LC₅₀ de los distintos productos (Tabla IV), el producto menos tóxico resulta ser el Genapol, pues los valores de LC₅₀, para machos, hembras y ambos son muy superiores a los obtenidos para Malation y la mezcla de Malation + Triclorfon.

La relación existente entre el valor de LC₅₀ y la dosis de aplicación en campo de cada uno de los productos (Tabla IV), nos indica que sólo el Genapol es aplicado con unas dosis inferiores al valor LC₅₀ ya que los valores de este índice son superiores a la unidad.

DISCUSIÓN

En las marismas del Bajo Guadalquivir, las hembras de *Procambarus clarkii* son más abundantes que los machos durante todo el periodo que abarca el cultivo del arroz, con tres picos significativos uno de los cuales coincide con las fases iniciales del cultivo (Cano & Ocete, 1997). El periodo coincide con la aplicación de los tratamientos (Malation o Malation + Triclorfon) para combatir las plagas de los planteles del arroz, y con el recomendado para Genapol.

El que no se den diferencias significativas entre los valores de LC₅₀ obtenidos (Tabla IV) entre los sexos, indica que la proporción de sexos en la población de *P. clarkii* no se va a ver especialmente afectada por la aplicación de los insecticidas ensayados.

Los valores de LC₅₀ citados en otros trabajos para *Procambarus clarkii* (Tabla V), en general, son semejantes a los obtenidos en el presente estudio; excepto el valor dado por Cheah *et al.* (1979-80) para Malation que es muy superior. Diferencia que Cano *et al.* (1999 a, b) atribuyen al estrés de los cangrejos (inducido por las exposiciones previas a insecticidas aplicados en los arrozales, transporte y manipulación en los ensayos) y al distinto tamaño medio de los individuos empleados en los tests.

Tabla V.— Valores de LC_{50} para *Procambarus clarkii*, con los productos ensayados, citados en la literatura.

Table V.— LC_{50} values for *Procambarus clarkii*, with the products used, cited in the literature.

Productos	LC_{50}	Tiempo	Citas
Malation	1.34 mg/l	96h	Cano <i>et al.</i> , 1999a
	50 mg/l	96h	Cano <i>et al.</i> , 1979-80
Mezcla Mal + Tric.	0.143 μ l/l+1.431 10^{-4} g/l (0.8581 mg/l)	96h	Cano <i>et al.</i> , 1999b
Genapol OX 80	6.95 mg/l	96h	Cano <i>et al.</i> , 1999a

El producto menos tóxico es Genapol, y aplicado en las concentraciones recomendadas, a las que no afecta a la supervivencia de las poblaciones del cangrejo rojo, sería en principio su uso recomendado en las fases iniciales del cultivo. Aunque recientemente, se ha comprobado que en las condiciones de campo del Bajo Mondego (Coimbra, Portugal), este producto no es efectivo para controlar el efecto negativo de *P. clarkii* sobre las plántulas de arroz (Anastácio *et al.*, 2000), faltaría comprobar si es efectivo en otras condiciones de cultivo (como ocurre en las marismas del Bajo Guadalquivir con temperaturas bastante más altas y con flujo continuo de agua). Si consideramos que las marismas del Bajo Guadalquivir han alcanzado la capacidad máxima de carga soportable para el cangrejo rojo (1.100 Kg/ha), y, si además se tiene en cuenta que la tasa de reproducción varía dependiendo de los efectivos iniciales (Chien & Avault, 1980; Gallego & Ocete, 1984; Cano & Ocete, 1994), y que Malation y Triclorfon no afectan a la biología de *P. clarkii* en los individuos que han sobrevivido a la exposición (Cano *et al.*, 1999b), se puede concluir que la población de este cangrejo, en la zona, no se verá afectada por las muertes que se produzcan como consecuencia de la aplicación de los insecticidas con estos productos.

BIBLIOGRAFÍA

- AGUILAR, M. 2001. *Cultivo del arroz en el sur de España*. Ed. Caja de Ahorros El Monte: 189 pp.
- ALGARÍN, S. 1980. Problemática y perspectiva de la introducción del cangrejo. *Jornadas de Estudio del Cangrejo Rojo de la Marisma*: 25-31. Junta de Andalucía, Sevilla.
- ANASTÁCIO, P. M., FRIAS, A. F. & MARQUES, J. C. 2000. Impact of crayfish densities on wet seeded rice and the inefficiency of a non-ionic surfactant as an ecotechnological solution. *Ecological Engineering*, 15: 17-25.
- ANASTÁCIO, P. M. & MARQUES, J. C. 1996. Crayfish (*Procambarus clarkii*) effects on initial stages of rice growth in the Lower Mondego River valley, Portugal. *Freshwater crayfish*, 11: 608-618.

- ANASTÁCIO, P. M., NIELSEN, S. N., MARQUES, J. C. & JORGENSEN, S. E. 1995. Integrated production of crayfish and rice: a management model. *Ecological Engineering*, 4: 199-210.
- CANO, E. 1994. *Estudios biológicos sobre Procambarus clarkii Girard (Decapoda, Cambaridae) en las marismas del bajo Guadalquivir*. Tesis Doctoral, Universidad de Sevilla.
- CANO, E. & OCETE, M. E. 1994. Datos sobre la «capacidad de carga» de las marismas del Bajo Guadalquivir, respecto de *Procambarus clarkii* Girard (Decapoda, Cambaridae). *Bol. San. Veg. Plagas*, 20: 145-149.
- 1997. Population Biology of Red Swamp Crayfish, *Procambarus clarkii* (Girard, 1852) in the Guadalquivir river marshes, Spain. *Crustaceana*, 70: 553-561.
- 2000. Tamaño medio y ecología reproductiva de *Procambarus clarkii* (Girard 1852) (Decapoda, Cambaridae) en las marismas del Bajo Guadalquivir. *Zoología baetica*, 11: 17-26.
- CANO, E., JIMÉNEZ, A., CABRAL, J. A. & OCETE, M. E. 1999a. Acute toxicity of malathion and the new surfactant “Genapol OXD 080” on species of rice basins. *Bull. Envir. Contam. Toxicol.*, 63: 133-138.
- CANO, E., JIMÉNEZ, A. & OCETE, M. E. 1999b. Acute toxicity and response of five size classes of *Procambarus clarkii* (Girard, 1852) (Decapoda, Cambaridae) to malathion and trichlorfon mixture. *Crustacean Issues*, 12: 489-495.
- CHEAH, M. L., AVAULT, J. W. & GRAVES, J. B. 1979-1980. Some effects of rice pesticides on crayfish. *Louisiana Agr.*, 23: 1-3.
- CHIEN, Y. & AVAULT, J. W. Jr. 1980. Production of crayfish in rice fields. *The Progressive Cultivist*, 42: 67-71.
- FINNEY, D. J. 1971. Probit analysis (3rd ed.). Ed. Cambridge Univ. Press, London.
- FONSECA, J. C., MARQUES, J. C. & MADEIRA, V. M. C. 1996. Oxygen uptake inhibition in *Procambarus clarkii*, Louisiana crayfish by biodegradable surfactants: an ecotechnological approach for population control in rice fields. *Freshwater crayfish*, 11: 235-242.
- GÁLLEGO, L. & OCETE, M. E., 1984. Problemática de la introducción de *Procambarus clarkii* (Girard) (Crustacea, Decapoda) en las marismas del Guadalquivir II: Posibles soluciones. *Trazos-Trabajos Zoológicos*, 2: 1-30.
- GAUDÉ, A. P. 1984. Ecology and production of Louisiana red swamp crayfish *Procambarus clarkii* in Southern Spain. In: *Freshwater Crayfish VI, Papers from the Sixth International Symposium on Freshwater Crayfish*: 111-130 (P. Brinck, Ed.) International Association of Astacology.
- GRIGARICK, A. A. & WAY, M. O. 1982. Role of crayfish (Decapoda: Astacidae) as pest of rice in California and their control. *J. Econ. Ent.*, 75: 633-636.
- HABSURGO-LORENA, A. S. 1979. Present situation of exotic species of crayfish introduced into Spanish continental waters. En: P. J. LAURENT (Editor). *Freshwater Crayfish IV, Papers from the Fourth International Symposium on Freshwater Crayfish*: 175-184. Institut National de la Recherche Agronomique.
- HILL, J. E., ROBERTS, S. R., BRANDON, D. M., SCARDACI, S. C., WILLIAMS, J. F., WICK, C. M., CANEVARI, W. M. & WIER, B. L. 1992. *Rice production in California*. Ed. Cooperative Extension University, Division of Agriculture and Natural Resources 21498.
- MAYER, F. L. & ELLERSIECK, M. R. 1986. *Manual of acute toxicity: Interpretation and Data Base for 410 chemicals and 66 species of freshwater animals*. Ed. Resource Publication 160, U. S. Fish and Wildlife Service, Washington, DC.
- NIQUETTE, D. J. & D'ABRAMO, L. R. 1991. Population dynamics of red swamp crayfish, *Procambarus clarkii* (Girard, 1852), cultured in earthen ponds. *Journal of Shellfish Research*, 10: 179-186.

- NOGUEIRA, A. 1995. *Probit Analysis*, Ed. Universidad de Coimbra, Coimbra.
- OCETE, M.E. & LÓPEZ, S. 1983. Problemática de la introducción de *Procambarus clarkii* (Girard) (Crustacea: Decapoda) en las marismas del Guadalquivir. En: *Actas del I Congreso Ibérico de Entomología*: 515-523. Sociedad Española de Entomología, León.
- STEVENS, M. M. 1991. Insecticide treatments used against a rice bloodworm, *Chironomus tepperi* Skuse (Diptera: Chironomidae): toxicity and residual effects in water. *Journal of Economic Entomology*, 84: 795-800.