

Efecto del quelato de cobre y agua ozonizada en el control del caracol manzana (*Pomacea canaliculata*) bajo condiciones *in vitro*

Effect of copper chelate and ozonated water on the control of apple snail (*Pomacea canaliculata*) under *in vitro* conditions

Angel Bernardo Llerena Hidalgo^{1*}  y Rafael Antonio Pérez Zambrano¹ 

¹ Universidad Católica de Santiago de Guayaquil, Facultad de Educación Técnica para el Desarrollo. Guayaquil, Ecuador.

*Autor para correspondencia:

a_llerena@hotmail.com

Conflicto de interés:

Los autores declaran no tener conflicto de interés.

Licencia:

Artículo publicado en acceso abierto con una licencia Creative Commons CC-BY

Contribución de autoría:

Todos los autores realizaron contribuciones sustanciales en la concepción y diseño de este estudio, al análisis e interpretación de datos, a la revisión del manuscrito y la aprobación de la versión final. Todos los autores asumen la responsabilidad por el contenido del manuscrito.

Historial:

Recibido: 05/06/2021;
Aceptado: 18/08/2022

Periodo de Publicación:

Julio-Diciembre de 2022



RESUMEN

En Latinoamérica y en los países asiáticos el caracol manzana *Pomacea canaliculata* es una de las plagas que más daños ha causado en las plantaciones de arroz, por eso está considerada entre las 100 peores especies invasoras del mundo. El presente trabajo es un ensayo experimental en laboratorio donde se aplicaron diferentes dosis de quelato de cobre y ozono para el control del caracol manzana con 4 tratamientos, 1 testigo y 6 repeticiones. Para la evaluación de efectividad de los tratamientos aplicados se utilizó el método de la OMS (1965). El porcentaje de mortalidad del T4, que corresponde a la dosis de 2 L/ha de quelato de cobre mezclado con agua ozonizada con 2 ppm de concentración, fue el tratamiento que mejor controla el caracol manzana resultando un 97,67% de mortalidad, al contrario del tratamiento T5 (testigo) donde se obtuvo un 6,33 % de mortalidad. Los resultados sugieren que el quelato de cobre mezclado con agua ozonizada podría ser usado en el control efectivo del caracol manzana.

Palabras clave: ozono, caracol manzana, cobre, moluscicida.

ABSTRACT

In Latin America and in Asian countries, the apple snail *Pomacea canaliculata* is one of the most destructive pests present in rice plantations, which is why it is considered among the 100 invasive species in the world. The present work is an experimental laboratory test where different doses of copper and ozone chelate for the control of apple snail are applied with 4 treatments, 1 control and 6 repetitions. For the evaluation of the applied molluscicides, the WHO method (1965) was used. The percentage of mortality of T4, which corresponds to the dose of 2 L / ha of copper chelate mixed with ozonized water with 2 ppm concentration, was the treatment that best controls apple snail, resulting in 97.67% of mortality, however, in T5 (control) a 6.33% of mortality was obtained. The results suggest that the copper chelate mixed with ozonated water can be used in the effective control of the apple snail.

Keywords: apple snail, copper, ozone, molluscicide.

INTRODUCCIÓN

En Latinoamérica y en los países asiáticos la plaga que más problemas ha causado en los cultivos de arroz en los últimos años es el Caracol manzana, disminuyendo los rendimientos significativamente (Horgan, Stuart y Kudavidanage, 2014; Diaz, 2014; Castillo Ruiz et

al., 2018; Carvalho, Gosmann y Turcato, 2019). Las pérdidas pueden alcanzar hasta el 60-90% de las plantas, pudiendo comer de 7 a 24 plantas por día (Horgan, 2017). Por eso el caracol manzana dorado, *Pomacea canaliculata* (Lamarck), está considerado entre 100 de las peores especies invasoras del mundo (Global Invasive Species Database, 2013).

El caracol manzana es un gasterópodo neotropical polifágico de agua dulce (Attademo, Lajmanovich, Peltzer y Junges, 2016; Carvalho et al., 2019). Para su alimentación prefieren las plantas tiernas de arroz causándoles la muerte, especialmente en la siembra directa y de trasplante temprano (Arias, Vivas & Jinés, 1989). Además, los caracoles manzana son portadores del parásito *Angiostrongylus cantonensis* causantes de la meningitis eosinofílica en humanos (Cowie, 2013).

Para reducir las poblaciones de *P. canaliculata* se usan controles fitosanitarios como los molusquicidas (Shen, Wang, Liu y Zou, 2018). Los molusquicidas se pueden clasificar como oxidantes y no oxidantes. La primera clase de compuestos incluye permanganato de potasio, peróxido de hidrógeno, ozono, cloro, bromo, etc., mientras que la segunda clase de compuestos incluye compuestos de amonio cuaternario y policuaternario, aromáticos hidrocarburos, metaldehído, niclosamida, metales como cobre, plata y sus sales y quelatos (Naghma, Zehra, Nasir, Imtiaz y Sikender, 2017 Rhys, 2018).

Los productos químicos no oxidantes presentan una función biológica específica sistémica, mientras que los oxidantes actúan de contacto, en el caso de animales les afecta su sistema respiratorio y digestivo (Pandiselvam, Subhashini, Banuu, Anjineyulu, Ramesh y Shahir, 2016). Muchos de estos molusquicidas son tóxicos para organismos no objetivo y pueden causar serios riesgos ambientales.

Aunque el uso de pesticidas es omnipresente, se están desarrollando continuamente nuevos métodos de control de plagas, como el uso del control biológico (Abdollahzadeh, Sharifzadeh y Damalas, 2016), la aplicación de ozono y sus subproductos (da Silva et al., 2019; Alwi, 2017), tratamiento ultravioleta, el uso de extractos de plantas (de Carvalho y Mello-Silva, 2018). Los cuales son alternativas que no afectan el medio ambiente y la salud humana porque tienden a no dejar residuos tóxicos y son biodegradables (Geraldine, Lengai, Muthomi y Mbega, 2020).

Uno de los molusquicidas mejor aceptados en la comunidad orgánica es el cobre. Pero el manejo del cobre como molusquicida exige cuidados debido a que pueden acumularse en los sedimentos de agua (McCartney, 2016). El cobre quelatado tiene la ventaja de demorar considerablemente más tiempo en sedimentarse que las formas inorgánicas, por lo que se requiere menos cobre para eliminar los organismos objetivo (Wang, Liu, Song, Khan y Qiu, 2019). Por lo tanto, en comparación con el sulfato de cobre, los productos de cobre quelado, aunque son más caros, son efectivos a tasas más bajas, reduciendo así el potencial de impactos ambientales especialmente en especies no objetivo (Leslie, 1992).

En base a todo lo expuesto se plantea estudiar el efecto de una solución de quelato de cobre y agua ozonizada en el grado de mortalidad del caracol manzana en condiciones in vitro para mejorar la efectividad y al mismo tiempo reducir el uso de productos con cobre que también tienen desventajas a largo plazo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Lugar de estudio

El ensayo in vitro se realizó en las instalaciones del Laboratorio de Suelos, Aguas y Plantas de la Universidad Católica de Santiago de Guayaquil (UCSG), en la ciudad de Guayaquil, Ecuador.

Ozonización del agua

Se utilizó un generador de ozono (O_3) de tipo descarga por corona con un reactor, enfriado con agua al ambiente, de 20 g O_3 /h, este a su vez alimentado por un tanque con gas O_2 al 99,99%. La ozonización del agua se realizó por medio de burbujeo con una piedra difusora de carburo de silicio, conectada por medio de mangueras de silicón a la salida de ozono del equipo. Después del burbujeo se midió la concentración de ozono disuelto con un colorímetro (CHEMetrics®) hasta llegar a 2 ppm. Se utilizó 2 ppm porque de acuerdo con investigaciones previas realizadas por Llerena, Castaño y Aguirre (2017) esta concentración controla el hongo causal de la Sigatoka Negra (*Pseudocercospora fijiensis*) y se estimó que podría tener algún efecto en el control del caracol manzana.

Ensayo in vitro

El ensayo se realizó en base a la metodología propuesta por la OMS (1965). Se estudiaron cinco tratamientos (Tabla 1) con seis repeticiones y en cada tratamiento se colocaron 50 caracoles en total. Los caracoles fueron obtenidos de una plantación de arroz. El tiempo de exposición de los caracoles con el principio activo fue de 24 horas y se lo realizó en recipientes rectangulares de 60 cm x 60 cm para simular las condiciones de campo. En el ensayo se evaluaron las dosis de 1 L y 2 L de quelato de cobre y la influencia del ozono, con concentración de 2 ppm, en el grado de mortalidad del caracol. El quelato de cobre utilizado tiene un 14% de cobre quelatado con ácido etilendiaminotetracético (EDTA).

Los individuos que no mostraron signos vitales después de inclinarse con una aguja se contaron como muertos, mientras que los caracoles que mostraban movimientos o una viabilidad reducida se contaron como sobrevivientes.

Tabla 1. Tratamientos con las dosis de quelato de cobre y agua ozonizada utilizados en el estudio para el control de caracol manzana.

Tratamientos	Dosis
T1	1 L de quelato de cobre / 200 L de agua
T2	2 L de quelato de cobre / 200 L de agua
T3	1 L de quelato de cobre / 200 L agua ozonizada (C=2 ppm)
T4	2 L de quelato de cobre / 200 L agua ozonizada (C=2 ppm)
T5	Agua ozonizada (C=2 ppm)

La mortalidad de los caracoles se evaluó al día siguiente después del tratamiento. Se recogieron todos los caracoles dentro del recipiente, se lavaron con agua y se dejaron recuperar durante 24 h. El porcentaje de mortalidad (IM) se basó en la observación de caracoles muertos encontrados en un número total de individuos.

IM= (Número de caracoles muertos/ Número total de caracoles) * 100.

Análisis de datos

Con el programa estadístico InfoStat los datos fueron sometidos al análisis de varianza (ANOVA). La prueba de significancia utilizada fue el Test de Duncan al 5%.

RESULTADOS Y DISCUSION

En la presente investigación se puede observar la efectividad del cobre y del agua ozonizada como molusquicida. Los resultados del ensayo (Tabla 2) muestran la incidencia del quelato de cobre combinado con agua ozonizada en el grado de mortalidad del caracol manzana.

De los resultados se observa que existen diferencias significativas entre los tratamientos ($P < 0.05$).

Tabla 2. Índice de mortalidad de los tratamientos con quelato de cobre y agua ozonizada en *P. canaliculata*.

Tratamientos	Índice de Mortalidad (IM%)
T1	91,33% ^{(a)*}
T2	95,83% ^(b)
T3	93,67% ^(c)
T4	97,67% ^(d)
T5	6,33% ^(e)

*Medias con una letra diferente en la columna presentan diferencia significativa ($P < 0,05$).

Se puede observar en la Tabla 2 que la efectividad del quelato de cobre es óptima debido a que es mayor al 90%. Además, al aumentar la dosis de quelato de cobre el índice de mortalidad (IM%) también aumenta.

Resultados similares fueron encontrados por Reddy, Ponder y Fried (2004) en este caso en *Echinostome cercariae* en el cual observaron que el cobre a concentraciones tan bajas como 0,01% fue tan efectiva en controlar los caracoles al 100% en un tiempo de 2 h. Por su parte, Wise, Mischke, Greenway, Byars y Mitchell (2006) demostraron que la aplicación uniforme de entre 2,5 y 5,0 ppm de sulfato de cobre controló en más del 96% al caracol de cuerno de carnero (*Planorbella trivolvis*). Froelich, Reimink y Rudko (2019) en otra investigación confirmaron que el ion Cu^{2+} es efectivo para controlar el caracol *Planorbella trivolvis* en condiciones de campo.

Según estudios histopatológicos realizados por Dumme, Tanhan, Kruatrachue, Damrongphol y Pokethitiyook (2015) en caracoles manzana expuestos a dosis sub-letales de sulfato de cobre, encontraron varias alteraciones en el epitelio de branquias, y en el tracto digestivo (esófago, intestino, recto). Además, Brix, Esbaugh y Grosell (2011) indicaron que el Cu^{2+} es un antagonista de Na^+ , por lo tanto, los organismos acuáticos de agua dulce tienen una capacidad reducida para captar activamente Na^+ afectando así al metabolismo del caracol.

El agua ozonizada también demostró tener un efecto molusquicida aunque de mucha menor incidencia que el quelato de cobre como se demuestra en el tratamiento T5 en el cual solo se usó agua ozonizada a 2 ppm y el grado de mortalidad fue de 6,33% siendo este muy leve. En este sentido podemos sugerir que a 2 ppm el agua ozonizada tiene un efecto mínimo como molusquicida oxidante frente al caracol manzana. Lo que concuerda con Klerks y Fraleigh (1991) y Lake y Hofmann (2019), que indican que, aunque posean cierto efecto tóxico, los molusquicidas oxidantes basados en peróxidos

requiere una exposición casi continua para inducir la mortalidad, debido a que el molusco se protegería cuando se aplique el producto, lo que puede ser no viable para el agricultor, en especial a los arroceros, que es donde más afecta esta plaga.

No obstante, la inclusión de agua ozonizada en los tratamientos con quelato de cobre potencializa el efecto mortal en los caracoles manzana, como se evidencia en la Tabla 2 los tratamientos T3 y T4 obtuvieron IM% más altos que los tratamientos T1 y T2 en los cuales no se usó agua ozonizada. Esto se debe a un doble mecanismo de acción oxidante y no oxidante. Rhys (2018) sugiere que los productos químicos no oxidantes en combinación con los oxidantes pueden complementar las deficiencias encontradas del mismo evidenciándose en los resultados del presente estudio. El tratamiento T4 fue el de mayor acción molusquicida con 97,67% de IM%, indicándose que es una excelente alternativa al uso de molusquicidas sintéticos.

CONCLUSIONES

Los ensayos realizados en esta investigación indican que el quelato de cobre es una sustancia óptima para el control del caracol manzana (*Pomacea canaliculata*), y una buena alternativa al uso de molusquicidas químicos como la niclosamida y el metaldehído. Además, al contrario del sulfato de cobre, el quelato de cobre es usado en menores cantidades reduciendo el potencial tóxico a organismos no objetivo. Se recomienda investigar a nivel de campo en cultivos de arroz con la dosis de 2 L/Ha de quelato de cobre en combinación con agua ozonizada a 2 ppm.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Instituto de Investigación e Innovación (SINDE) de la Universidad Católica de Santiago de Guayaquil (UCSG), por el financiamiento del Proyecto "Efecto de una disolución de quelato de cobre y Ozono en el grado de infestación del caracol manzana (*Pomacea canaliculata*) en el cultivo de arroz", que es parte del presente artículo.

REFERENCIAS

Abdollahzadeh, G., Sharifzadeh, M. & Damalas, C. (2016). Motivations for adopting biological control among Iranian rice farmers. *Crop Protection*, 80, 42-50. doi:10.1016/j.cropro.2015.10.021.

Alwi, N. A. (2017). Ozone fumigation effects on bacterial and anthracnose development on bell pepper (*Capsicum annuum* L.) and its effect on fruit quality. (Tesis de Doctorado). University of Nottingham. Disponible en: [http://eprints.nottingham.ac.uk/39584/1/Thesis%20\(Nurul%20Alyaa%20Alwi\)%20\(1\).pdf](http://eprints.nottingham.ac.uk/39584/1/Thesis%20(Nurul%20Alyaa%20Alwi)%20(1).pdf)

Attademo, A. M., Lajmanovich, R. C., Peltzer, P. M. & Junges, C. M. (2016). Acute Toxicity of

Metaldehyde in the Invasive Rice Snail *Pomacea canaliculata* and Sublethal Effects on Tadpoles of a Non-target Species (*Rhinella arenarum*). *Water Air Soil Pollut*, 227: 400-412.

- Brix, K. V., Esbaugh, A. J. & Grosell, M. (2011). The toxicity and physiological effects of copper on the freshwater pulmonate snail, *Lymnaea stagnalis*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 154(3), 261-267.
- Castillo Ruiz, M., Canon Jones, H., Schlotterbeck, T., López, M., Tomas, A. & San Martín Gamboa, R. (2018). Safety and efficacy of quinoa (*Chenopodium quinoa*) saponins derived molluscicide to control of *Pomacea maculata* in rice fields in the Ebro Delta, Spain. *Crop Protection*, 111, 42-49.
- Carvalho, F., Gosmann, G. & Turcato, G. (2019). Extracts of the unripe fruit of *Ilex paraguariensis* as a potential chemical control against the golden apple snail *Pomacea canaliculata* (Gastropoda, Ampullariidae). *Natural Product Research*, 33(16), 2379-2382.
- Cowie, R. H. (2013). Pathways for transmission of angiostrongyliasis and the risk of disease associated with them. *Hawai'i journal of medicine & public health: a journal of Asia Pacific Medicine & Public Health*, 72(6 Suppl 2), 70-74.
- da Silva Neto, O. P., da Silva Pinto, E. V., Ootani, M. A., da Silva Junior, J. L., da Silva Bentes, J. L., Bentes Lima, J. L. & Duarte de Sousa, A. E. (2019). Ozone slows down anthracnose and increases shelf life of papaya fruits. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 41(5), e-439.
- de Carvalho, A. R. & Mello-Silva, C. C. C. (2018). Phytochemical Molluscicides and Schistosomiasis: What We Know and What We Still Need to Learn. *Vet Sci.*, 5(4), 94.
- Dumme, V., Tanhan, P., Kruatrachue, M., Damrongphol, P. & Pokethitiyook, P. (2015). Histopathological changes in snail, *Pomacea canaliculata*, exposed to sub-lethal copper sulfate concentrations. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 122, 290-295.
- Froelich, K. L., Reimink, R. L. & Rudko, S. P. (2019). Evaluation of targeted copper sulfate (CuSO_4) application for controlling swimmer's itch at a freshwater recreation site in Michigan. *Parasitol Res.*, 118, 1673-1677.
- Geraldine, M., Lengai, J., Muthomi, W. & Mbega, E. (2020). Phytochemical activity and role of botanical pesticides in pest management for sustainable agricultural crop production. *Scientific African*, 7, e00239.
- Global Invasive Species Database (2013). *100 of the World's Worst Invasive Alien Species*. <http://www.issg.org/database/species/search.asp?st%14100ss>.
- Horgan, F., Stuart, A. & Kudavidanage, E. (2014). Impact of invasive apple snails on the functioning and services of natural and managed wetlands. *Acta Oecol.*, 54, 90-100.
- Horgan, F. (2017). Ecology and Management of Apple Snails in Rice. *Rice Production Worldwide*, 393-417.
- Klerks, P. & Fraleigh, P. (1991). Controlling Adult Zebra Mussels With Oxidants. *Journal (American*

- Water Works Association*), 83 (12), 92-100.
- Lake, I. & Hofmann, R. (2019). Effectiveness of a copper based molluscicide for controlling *Dreissena* adults. *Environmental Science: Water Research & Technology*, 5, 693-703.
- Llerena, A., Castaño, R. & Aguirre, C. (2015). Relación de la concentración y frecuencia de aplicación de ozono con el nivel de daño de la sigatoka negra en banano. Diseño de un protocolo de riego con agua ozonificada. *Alternativas*, 16 (2), 66-75
- McCartney, M. A. (2016). *Summary Report: Field evaluation of toxicity of low-dose molluscicide treatments for zebra mussel veliger larvae-potential applications in lake management*. Prepared for Minnehaha Creek Watershed District. Minnesota: University of Minnesota, 1-52.
- Naghma, K., Zehra, K., Nasir, H. N., Imtiaz, B. & Sikender, H. (2017). Effect of copper sulfate on eradication of snail's specie, *Oncomelania quadrasi*, in aquatic habitats having *Labeo rohita* as a selected fish. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 16(2), 800-814.
- OMS. (1965): Molluscicide screening and evaluation. *Bulletin of the World Health Organization*, 33 (4), 567-581.
- Pandiselvam, R., Subhashini, S., Banuu, E., Anjineyulu, S. V. Ramesh & Shahir, S. (2019) Ozone based food preservation: a promising green technology for enhanced food safety. *Ozone: Science & Engineering*, 41 (1), 17-34.
- Reddy, A., Ponder, E. & Fried, B. (2004) Effects of copper sulfate toxicity on *Cercariae* and *Metacercariae* of *Echinostoma caproni* and *Echinostoma trivolvis* and on the survival of *Biomphalaria glabrata* snails. *J Parasitol*, 90(6), 1332-1337.
- Rhys, I. (2018). *Dreissena Fouling Control for Water Treatment Plants and the Investigation of a New Copper-based Molluscicide* (Tesis de Maestría). Department of Civil & Mineral Engineering: University of Toronto.
- Shen, X., Wang, Z., Liu, L. & Zou, Z. (2018). Molluscicidal activity of *Solidago canadensis* L. extracts on the snail *Pomacea canaliculata* Lam. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 149, 104-112.
- Wang, K., Liu, Y., Song, Z., Khan, Z. H. & Qiu, W. (2019). Effects of biodegradable chelator combination on potentially toxic metals leaching efficiency in agricultural soils. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 182.
- Wise, D., Mischke, C., Greenway, T., Byars, T. & Mitchell, A. (2006) Uniform application of copper sulfate as a potential treatment for controlling snail populations in channel catfish production ponds. *N Am J Aquac.*, 68(4), 364.