



UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA

**Proyecto de Investigación
Previo a la Obtención del Título
de Ingeniero Agrónomo**

Título del Proyecto de Investigación:

“Efecto de extractos botánicos a base de ají (*Capsicum frutescens*) y neem (*Azadirachta indica*) sobre el caracol manzana (*Pomacea canaliculata*)”

Autor:

Darwin Javier Bajaña Pérez

Director:

Ing. Ludvick Leonardo Amores Puyutaxi

Quevedo – Los Ríos – Ecuador

2016

DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS

Yo, **Darwin Javier Bajaña Pérez**, declaro que el trabajo aquí descrito es de mi autoría; que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional; y, que he consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

La Universidad Técnica Estatal de Quevedo, puede hacer uso de los derechos correspondientes a este trabajo, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, por su Reglamento y por la normativa institucional vigente.

Atentamente;

Darwin Javier Bajaña Pérez
Autor

CERTIFICACIÓN DE CULMINACIÓN DEL PROYECTO DE TITULACIÓN

El suscrito **Ing. Ludvick Leonardo Amores Puyutaxi.**, Docente de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, certifica que el estudiante **Darwin Javier Bajaña Pérez**, realizó el Proyecto de Investigación titulado “**Efecto de extractos botánicos a base de ají (*Capsicum frutescens*) y neem (*Azadirachta indica*) sobre el caracol manzana (*Pomacea canaliculata*)**”, previo a la obtención del título de Ingeniero Agrónomo, bajo mi dirección, habiendo cumplido con las disposiciones reglamentarias establecidas para el efecto.

Atentamente;

Ing. Ludvick Leonardo Amores Puyutaxi
Director del Proyecto de Investigación

CERTIFICADO DEL REPORTE DE LA HERRAMIENTA DE PREVENCIÓN DE COINCIDENCIA Y/O PLAGIO ACADÉMICO

URKUND	
Dokument	Bajaña Proy. Inv. 03.02.16.docx (D17583694)
Inskickat	2016-02-03 17:13 (-05:00)
Inskickad av	rgaibor@uteq.edu.ec
Mottagare	rgaibor.uteq@analysis.orkund.com
Meddelande	Bajaña Proy. Inv. 03.02.16 Visa hela meddelandet
	7% av det här c:a 17 sidor stora dokumentet består av text som också förekommer i 1 st källor.

URKUND	
<h2>Urkund Analysis Result</h2>	
Analysed Document:	Bajaña Proy. Inv. 03.02.16.docx (D17583694)
Submitted:	2016-02-03 23:13:00
Submitted By:	rgaibor@uteq.edu.ec
Significance:	7 %
Sources included in the report:	
Proyecto de Investigación Darwin Bajaña 06.11.15.docx (D16071604)	
Instances where selected sources appear:	
8	

Ing. Ludvick Leonardo Amores Puyutaxi
Director del Proyecto de Investigación



UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA
PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

Título:

“Efecto de extractos botánicos a base de ají (*Capsicum frutescens*) y neem (*Azadirachta indica*) sobre el caracol manzana (*Pomacea canaliculata*)”

Presentado a la Comisión Académica como requisito previo a la obtención del título de:

Ingeniero Agrónomo

Autor:

Darwin Javier Bajaan Pérez

Aprobado por:

Ing. Ignacio Sotomayor Herrera
Presidente del Tribunal

Ing. Cesar Varas Maenza
Miembro del Tribunal

Econ. Flavio Ramos Martínez
Miembro del Tribunal

Quevedo – Los Ríos – Ecuador

2015

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios por protegerme durante todo mi camino y darme fuerzas para superar obstáculos y dificultades a lo largo de toda mi vida.

A mi padre Darwin Bajaña Alava y mi madre Lucía Pérez Maldonado, que con su demostración ejemplar me han enseñado a no desfallecer ni rendirme ante nada y siempre perseverar a través de sus sabios consejos.

Al Ing. Ludvick Amores tutor de este proyecto de investigación por su valiosa guía y asesoramiento a la realización del mismo.

A mis profesores a quienes les debo gran parte de mis conocimientos, gracias a su paciencia y enseñanza y finalmente un eterno agradecimiento a esta prestigiosa universidad la cual abrió abre sus puertas a jóvenes como nosotros, preparándonos para un futuro competitivo y formándonos como personas de bien.

A mis compañeros de clase y en general a todas las personas que ayudaron directa e indirectamente en la realización de este proyecto de investigación.

Darwin Bajaña

DEDICATORIA

Dedico este trabajo principalmente a Dios, por haberme dado la vida y permitirme el haber llegado hasta este momento tan importante de mi formación profesional.

A mi padre Darwin Bajaña Alava y mi madre Lucía Pérez Maldonado, pilares fundamentales en mi vida. Sin ellos, jamás hubiese podido conseguir lo que hasta ahora he logrado. Su tenacidad y lucha insaciable han hecho de ellos el gran ejemplo a seguir y destacar.

Darwin Bajaña

Resumen

Considerando los diferentes problemas que implican el uso descontrolado de pesticidas en la agricultura moderna se llevó a cabo la presente investigación a fin de evaluar el efecto de los preparados a base de ají y neem sobre el caracol manzana (*Pomacea canaliculata*). Para ello se recolectaron caracoles en arrozales y se los llevó al laboratorio de microbiología del Campus Manuel Haz Álvarez de la UTEQ, donde se los alimentó y se aplicaron los tratamientos en estudio para después llevar a cabo la medición de las variables respectivas. Se utilizó un Diseño Completamente Aleatorio con seis tratamientos en cuatro repeticiones. Los mejores resultados en cuanto a tasa de mortalidad, disminución en alimento consumido y oviposturas se obtuvieron con el metaldehído, sin embargo con los extractos botánicos de neem y ají en dosis de 175 cc/l y 150 cc/l, respectivamente se obtuvieron tasas de mortalidad aceptables (50 y 70 % en su orden) y una considerable disminución de alimento consumido (64 y 61 %) y oviposiciones (71.4 % y 85.7 %), representando una método ecológico de control del caracol manzana, cumpliendo con las exigencias que demanda una agricultura ecológica, para ser aplicada en los diferentes cultivos amenazados por esta plaga.

Palabras Claves: caracol manzana, bioinsecticidas, neem, ají.

Summary

Considering the various problems involving the uncontrolled use of pesticides in modern agriculture is conducted this investigation in order to assess the effect of the preparations of pepper and neem on the apple snail (*Pomacea canaliculata*). To do snails were collected in rice fields and took to the microbiology laboratory of Campus Manuel Alvarez Make UTEQ, where they were fed and applied the treatments under study, then carry out the measurement of the variables. Design completely randomized was used with six treatments in four replications. The best results in terms of mortality, reduced feed intake and egg masses were obtained with metaldehyde, however with botanical extracts of neem and chili dose of 175 cc / l and 150 cc / l, respectively mortality rates were obtained acceptable (50 to 70% in your order) and a significant decrease in feed intake (64 and 61%) and oviposition (71.4% and 85.7%), representing an organic method of apple snail control, meeting the demands from a Organic farming, for application in various crops threatened by this scourge.

Keywords: apple snail, bio-insecticides, neem, pepper.

TABLA DE CONTENIDO

Contenido	Página
Portada.....	i
Declaración de Autoría y Cesión de Derechos.....	ii
Certificación de Culminación del Proyecto de Investigación.....	iii
Reporte de la Herramienta de Prevención de Coincidencia y/o Plagio Académico.....	iv
Certificación de Aprobación por Tribunal de Sustentación.....	v
Agradecimiento.....	vi
Dedicatoria.....	vii
Resumen.....	viii
Summary.....	ix
Tabla de Contenido.....	x
Índice de Tablas.....	xiii
Índice de Anexos.....	xiv
Código Dublin.....	xv
Introducción.....	1
CAPÍTULO I CONTEXTUALIZACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN.....	3
1.1 Problema de Investigación.....	4
1.1.1 Planteamiento del Problema.....	4
1.1.2 Formulación del Problema.....	5
1.1.3 Sistematización del Problema.....	5
1.2 Objetivos.....	6
1.2.1 Objetivo General.....	6
1.2.2 Objetivos Específicos.....	6
1.3 Justificación.....	7
	x

CAPÍTULO II FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA DE LA INVESTIGACIÓN.....	8
2.1 Marco Conceptual	9
2.1.1 Bioinsecticida.....	9
2.1.2 Agricultura Ecológica	9
2.1.3 Manejo Integrado de Plagas (MIP)	9
2.2 Marco Referencial	10
2.2.1 Descripción y Biología del Caracol Manzana.....	10
2.1.1.1 Distribución Geográfica.....	12
2.1.1.2 Mecanismos de Dispersión	12
2.1.1.3 Impactos.....	12
2.1.1.4 Control Biológico	14
2.1.1.5 Control Cultural	14
2.1.1.6 Control Químico	15
2.1.2 Insecticidas a Base de Extractos Botánicos	15
2.1.2.1 Bioinsecticida a Base de Ají (<i>Capsicum frutescens</i>)	17
2.1.2.2 Bioinsecticida de Neem (<i>Azadirachta indica</i>).....	19
2.1.3 Extractos con Actividad Molusquicida	21
2.1.4 Ventajas y Desventajas del Uso de Bioinsecticidas	22
2.1.5 Metaldehído como Molusquicida.....	23
CAPÍTULO III METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN	24
3.1 Localización	25
3.2 Tipo de Investigación	25
3.3 Métodos de Investigación.....	25
3.4 Fuentes de Recopilación de Información	25
3.5 Instrumentos de Investigación.....	26

3.5.1 Tratamientos Estudiados	26
3.5.2 Manejo del Experimento	26
3.6 Diseño Experimental y Análisis Estadístico.....	27
3.7 Datos Registrados y Forma de Evaluación.....	27
3.7.1 Número de Caracoles Muertos.....	27
3.7.2 Número de Caracoles Vivos.....	27
3.7.3 Peso en Gramos de Alimento Consumido	28
3.7.4 Número de Postura de Huevos.....	28
3.8 Recursos Humanos y Materiales	28
3.8.1 Bioinsecticida de Ají.....	28
3.8.2 Bioinsecticida de Neem.....	28
CAPÍTULO IV RESULTADOS Y DISCUSIÓN	29
4.1 Resultados	30
4.1.1 Número de Caracoles Vivos.....	30
4.1.2 Número de Caracoles Muertos.....	31
4.1.3 Peso de Alimento Consumido (g)	32
4.1.4 Número de Oviposturas.....	33
4.2 Discusión.....	34
CAPÍTULO V CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	36
5.1 Conclusiones	37
5.2 Recomendaciones	38
CAPÍTULO VI BIBLIOGRAFÍA	39
6.1 Bibliografía Citada	40
CAPÍTULO VII ANEXOS.....	44

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Esquema del análisis de varianza.	27
Tabla 2 Número de caracoles vivos.....	30
Tabla 3 Número de caracoles muertos	31
Tabla 4 Peso promedio de alimento consumido.....	32
Tabla 5 Número de oviposturas.....	33

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1 Análisis de varianza de número de caracoles vivos.....	45
Anexo 2 Análisis de varianza de número de caracoles muertos.....	45
Anexo 3 Análisis de varianza de peso consumido (g).....	45
Anexo 4 Análisis de varianza de oviposturas.....	45
Anexo 5 Bioinsecticidas de neem y ají usados en el ensayo.....	46
Anexo 6 Unidades experimentales del ensayo.....	46
Anexo 7 Especímenes de caracol manzana recién recolectadas.....	47
Anexo 8 Adición de comida a las unidades experimentales.....	47
Anexo 9 Limpieza de las unidades experimentales.....	48
Anexo 10 Oviposturas de <i>P. caniculata</i>	48

Código Dublin

Título:	Efecto de extractos botánicos a base de ají (<i>Capsicum frutescens</i>) y neem (<i>Azadirachta indica</i>) sobre el caracol manzana (<i>Pomacea canaliculata</i>)
Autor:	Darwin Javier Bajaña Pérez
Palabras clave:	caracol manzana, bioinsecticidas, neem, ají.
Fecha de publicación	
Editorial:	
Resumen:	Considerando los diferentes problemas que implican el uso descontrolado de pesticidas en la agricultura moderna se llevó a cabo la presente investigación a fin de evaluar el efecto de los preparados a base de ají y neem sobre el caracol manzana (<i>Pomacea canaliculata</i>). Para ello se recolectaron caracoles en arrozales y se los llevó al laboratorio de microbiología del Campus Manuel Haz Álvarez de la UTEQ, donde se los alimentó y se aplicaron los tratamientos en estudio para después llevar a cabo la medición de las variables respectivas. Se utilizó un Diseño Completamente Aleatorio con seis tratamientos en cuatro repeticiones. Los mejores resultados en cuanto a tasa de mortalidad, disminución en alimento consumido y oviposturas se obtuvieron con el metaldehído, sin embargo con los extractos botánicos de neem y ají en dosis de 175 cc/l y 150 cc/l, respectivamente se obtuvieron tasas de mortalidad aceptables (50 y 70 % en su orden) y una considerable disminución de alimento consumido (64 y 61 %) y oviposiciones (71.4 % y 85.7 %), representando una método ecológico de control del caracol manzana, cumpliendo con las exigencias que demanda una agricultura ecológica, para ser aplicada en los diferentes cultivos amenazados por esta plaga.
Descripción:	
URL	

INTRODUCCIÓN

El caracol manzana (*Pomacea canaliculata*) es una plaga que causa un alto nivel de pérdidas en los cultivos principalmente de arroz, pero a más de eso se alimenta también de hortalizas en semilleros debido a la etapa joven de la planta. Para su control los agricultores aplican insecticidas de alta toxicidad, los cuales no producen efecto alguno sobre dicha plaga ya que es un molusco. Los plaguicidas sintéticos, elaborados muchas veces a base de materiales no renovable, tienen el inconveniente en muchos casos de eliminar tanto a las plagas como a los insectos benéficos, y generar otros efectos secundarios no deseados (residuos, resistencia), desequilibrando los frágiles sistemas productivos y afectando la salud de los actores sociales.

Ante la necesidad urgente por encontrar una nueva alternativa natural para el control de insectos plagas y reemplazar así los pesticidas sintéticos, aparecen los insecticidas botánicos ofreciendo seguridad para el medio ambiente y una eficiente opción agronómica. Lo expresado anteriormente justifica la presente investigación a fin de proponer una alternativa de control para el control manzana causando el menor impacto en el ambiente.

Los productos a base de plantas, que vienen siendo utilizados para controlar un ataque severo de plagas buscan, entre otras cosas, generar ventajas a partir de las siguientes características: se producen a partir de materias primas renovables, se degradan más rápidamente, tienden a ser selectivos y específicos respetando por tanto el principio de la biodiversidad y minimizando los impactos ambientales negativos. Sin embargo, existen muy pocos registros relacionados a las dosis, técnicas y publicaciones de ensayos realizados que permitan aplicar métodos efectivos para controlar plagas.

Por su naturaleza los plaguicidas botánicos pueden usarse con seguridad en una agricultura sustentable; su ingrediente activo son los terpenos, alcaloides y compuestos fenólicos con efecto insecticida para diversas plagas agrícolas, además son menos costosos, biodegradables seguros para el ser humano y el medio ambiente, y de poca residualidad.

Tanto el neem como el tabaco se han usado en diferentes estudios causando altas niveles de mortalidad en las plagas, sin embargo es necesario identificar la dosis de mayor eficiencia para alcanzar mayor índice de mortalidad en el caracol manzana y de este modo constituir una opción para que los agricultores aprovechen recursos de sus propias fincas y disminuyan costos de producción.

CAPÍTULO I

CONTEXTUALIZACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

1.1 Problema de Investigación

1.1.1 Planteamiento del Problema

Los productos sintéticos destinados a controlar plagas en los vegetales han tenido un rol muy marcado en el incremento de la producción agrícola. Sin embargo, el uso continuo e indiscriminado de estas sustancias y su utilización constante en el control del caracol puede alterar el medio biológico produciendo graves daños en los diversos ecosistemas (Díaz, 2011).

El uso de agroquímicos (fertilizantes, insecticidas, fungicidas, herbicidas, etc.) en la producción de alimentos ha sido objeto de serios cuestionamientos a nivel mundial en estos últimos años en vista de que la acción de estos productos sintéticos es capaz de producir serios trastornos en el medio ambiente y por ende en la salud de los seres vivos (Suquilanda, 2006).

Los plaguicidas sintéticos son además responsables de la resistencia por parte de las plagas, sumándose a esto la destrucción de parásitos, usualmente predadores naturales y polinizadores, entre los otros tantos integrantes del ecosistema que han visto alterado su ciclo de vida a causa de estos productos.

Los sistemas agrícolas intensivos tienden a favorecer la producción a corto plazo, comprometiendo así las producciones de los cultivos en el futuro, debido al uso irracional de los insumos agrícolas; en consecuencia es más evidente que las condiciones necesarias para la seguridad y soberanía alimentaria están seriamente afectadas (INIAP, 2014).

En la actualidad resulta de gran importancia investigar y encontrar las variantes que permitan el desarrollo de una agricultura rentable y no contaminante del medio ambiente, por tanto, se hace imprescindible el estudio de nuevas alternativas para el Manejo Integrado de Plagas (MIP) amigables con el medio ambiente que cada vez está mayormente afectado por la actividad agrícola, causante de gran índice de contaminación.

1.1.2 Formulación del Problema

A raíz de la contaminación que han producido los insecticidas sintéticos en el medio ambiente, al tratar de controlar el caracol manzana, surge la necesidad de la búsqueda de métodos control de insectos utilizando extractos de plantas con efecto insecticida que son de bajo costo y de fácil elaboración.

1.1.3 Sistematización del Problema

En base a la problemática abordada anteriormente se plantean las siguientes directrices:

¿Cuál de los dos bioinsecticidas en estudio produce mayor tasa de mortalidad sobre *P. canaliculata*?

¿Qué dosis es la adecuada para disminuir el ataque del caracol manzana?

¿Qué efecto producen los extractos botánicos en estudio sobre la oviposición y consumo de alimento por el *P. canaliculata*?

1.2 Objetivos

1.2.1 Objetivo General

Evaluar el efecto de los preparados a base de ají y neem sobre el caracol manzana (*Pomacea canaliculata*).

1.2.2 Objetivos Específicos

- Determinar el efecto de diferentes dosis de los extractos botánicos de ají y neem sobre *P. canaliculata*.
- Determinar la dosis más eficaz de los extractos botánicos para el control del caracol manzana.
- Identificar el extracto botánico que mayor tasa de mortalidad presente sobre el control del caracol manzana.

1.3 Justificación

La necesidad de disminuir la dependencia de productos químicos artificiales en los distintos cultivos obliga a buscar alternativas fiables y sostenibles (FONAG, 2010). En la actualidad resulta de gran importancia investigar y encontrar nuevas alternativas tecnológicas que permitan el desarrollo de una agricultura rentable y no contaminante del medio ambiente. Por otra parte, el uso de productos químicos en la agricultura convencional aumenta notablemente los rendimientos y la rentabilidad de los cultivos, sin embargo la utilización inadecuada y constante de estos productos pueden alterar el medio biológico produciendo graves daños en los diversos ecosistemas.

En aras de desarrollar una agricultura sostenible, es de fundamental importancia la implementación de prácticas para el control de plagas que minimicen el impacto ambiental y que de igual forma sean de fácil elaboración y consecución para los productores agrícolas.

El control de plagas mediante la utilización de preparados botánicos, es una buena opción al ser elaborados a partir de extractos de plantas con propiedades insecticidas, los mismos que en su mayoría provocan la inhibición del desarrollo y comportamiento de los insectos en lugar de matarlos directamente, así como también algunos tienen propiedades repelentes. De esta manera, estos productos constituyen un método de control alternativo frente al uso de plaguicidas sintéticos.

CAPÍTULO II

FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA DE LA INVESTIGACIÓN

2.1 Marco Conceptual

2.1.1 Bioinsecticida

Un bioinsecticida se puede definir como un organismo vivo (hongo, bacteria, virus), capaz de matar a los insectos. También puede ser una sustancia química, que estando presente en una determinada planta, puede repeler o matar a los insectos (Fernández, 2009).

2.1.2 Agricultura Ecológica

La agricultura ecológica nace del respeto a las dinámicas naturales de los ecosistemas y de la preservación del equilibrio biológico. Garantiza una agricultura sana y alimentos saludables para hoy y para mañana, ya que protege el suelo, el agua y el clima, promoviendo la biodiversidad. No contamina el medio ambiente con agroquímicos ni con cultivos transgénicos (Greenpeace, 2015).

2.1.3 Manejo Integrado de Plagas (MIP)

El manejo integrado de plagas es una metodología que emplea todos los procedimientos aceptables desde el punto de vista económico, ecológico y toxicológico para mantener las poblaciones de organismos nocivos por debajo del umbral económico, aprovechando, en su mayor medida posible, los factores naturales que limiten la propagación de dichos organismos (Cañedo, Alfaro, & Kroschel, 2011).

El objetivo superior del manejo integrado de plagas es incrementar al máximo los beneficios de los agricultores (rendimiento de las cosechas, comodidad, tiempo libre) manteniendo los costos al nivel más bajo posible y teniendo en cuenta los límites ecológicos y sociológicos de todo ecosistema así como la conservación a largo plazo del medio ambiente. Este manejo supone un conocimiento exacto de la biología del organismo nocivo y su relación con el propósito de crecimiento de la planta (Díaz, 2014).

2.2 Marco Referencial

2.2.1 Descripción y Biología del Caracol Manzana

Pomacea canaliculata es el caracol de agua dulce más grande del mundo, pudiendo llegar a alcanzar los 15 cm de longitud en estado adulto. Posee un sifón tubular de hasta dos veces su tamaño, que le permite respirar estando sumergido. La concha es muy grande, de forma globosa y de color amarillo-marrón con bandas oscuras. La abertura de la concha, también de gran tamaño, puede ser oval o redondeada. El pie es de color gris amarronado con manchas oscuras (Rodríguez & Sorolla, 2014).

Varios otros nombres científicos se han utilizado para *P. canaliculata* dando lugar a nombres de género incorrectos o inválidos que identifican como una especie diferente. En el pasado, la taxonomía altamente confusa de Sudamérica, llevó a algunos autores a considerar *P. canaliculata* como una especie distribuida de forma natural en América del Sur (CABI, 2015). Sin embargo, el trabajo de Hayes *et al.* (2008), incluyendo tanto los análisis moleculares y morfológicos, demostraron que el rango de *P. canaliculata* se restringe al Paraná Inferior, Uruguay y cuencas de La Plata, aunque basándose en la similitud del hábitat y de las cuencas hidrográficas, es posible que también puede ocurrir en el curso inferior del Paraná superior y partes de Brasil meridional.

El caracol manzana, permanece sumergido durante el día y oculto en la vegetación cerca de la superficie. Es más activo durante la noche, momento en el cual sale a ovipositar. La tasa de actividad de este caracol varía mucho con la temperatura del agua, a los 18 °C apenas se mueve, en contraste con temperaturas más altas, por ejemplo 25 °C. Sin embargo, es más resistente a temperaturas bajas que la mayoría de otros caracoles del género *Pomacea* (ISSG, 2005).

En Filipinas, *P. canaliculata* ha presentado densidades de 1 – 5 caracoles/m², pero han sido reportadas densidades de hasta 150 caracoles/m². Tiene una mortalidad alta en agua con

temperaturas superiores a 32°C; puede sobrevivir de 15 a 20 días a 0°C, 2 días a -3°C pero solo 6 horas a - 6°C (Cowie, 2000).

Tienen una alta tasa de reproducción, e incluso pueden sobrevivir a severas condiciones ambientales como la contaminación o niveles bajos de oxígeno. Han demostrado una tenaz habilidad para sobrevivir y extenderse rápidamente en los hábitats de agua dulce en los que se han introducido (Agrocalidad, 2013).

Es una especie herbívora muy voraz que se alimenta de numerosas especies de plantas acuáticas de fácil digestión. Realiza las puestas fuera del agua, en masas compactas sobre superficies duras o vegetación acuática. Los huevos son de color rosa-rojizo brillante y con el tiempo, adquieren un tono blanquecino. El tamaño de las puestas suele oscilar entre 300-800 huevos aunque pueden llegar a superar los 2000. Los huevos eclosionan a los 15 días y las crías presentan el mismo aspecto que el adulto pero con un tamaño de unos pocos milímetros. En 2 ó 3 meses alcanzan la madurez sexual y son capaces de reproducirse (Rodríguez & Sorolla, 2014).

P. canaliculata es un molusco gastrópodo de agua dulce, habitante usual de las lagunas y arroyos. Aunque su medio es el agua dulce puede sobrevivir a periodos de desecación, debido a que además de poseer una branquia también tiene un pulmón (condición anfibia). Uno de los aspectos más interesantes de la biología, es su capacidad de invernarse. En este proceso el animal se entierra en el fango hasta varios centímetros de profundidad, se retrae dentro de su conchilla, la sella fuertemente con el opérculo y disminuye al mínimo todas las funciones corporales. En esta situación puede permanecer de cuatro a cinco meses hasta que vuelvan las condiciones ambientales favorables (Carreón, 2003).

La mayor parte de la literatura sobre el manejo de las plagas de caracoles manzana, sin duda, se refiere a *P. canaliculata*, que es la especie más extendida introducidas de Pomacea en Asia. Sin embargo, debido al pasado confusión con respecto a la identidad de las especies introducidas a Asia, parte de la información supuestamente relacionada con *P. canaliculata* pueden referirse a una o ambas *P. canaliculata* y *P. maculata* (CABI, 2015).

El signo más reconocible de la presencia de *P. canaliculata* (y otras especies de caracoles manzana relacionados) son sus brillantes de color rosa masas de huevos, que se colocan en la vegetación emergente (incluyendo cultivos de humedales) y otras superficies duras por encima de la línea de agua, tales como rocas, troncos y soportes del puente. Estas masas de huevos son muy notables e incluso pueden verse desde un vehículo en movimiento (Hayes, R, & Thiengo, 2009).

2.1.1.1 Distribución Geográfica

P. canaliculata, es una especie Sudamericana, desde donde fue introducida al sud-este de Asia alrededor de 1980, como un recurso local de alimentación y como un artículo gourmet para exportación. El mercado nunca desarrolló; los caracoles escaparon o fueron liberados y empezaron a ser una plaga seria en los cultivos de arroz de varios países de sureste asiático. Fueron introducidos a Hawaii en 1989, probablemente desde Filipinas por las mismas razones que fue introducido a Asia (Cowie, 2000).

2.1.1.2 Mecanismos de Dispersión

El mecanismo de dispersión de esta especie puede ser tanto pasivo (por flotación y traslado en el sentido de la corriente) como activo contra la corriente fluvial (reptando por el suelo). La maquinaria agrícola procedente de zonas con presencia de caracol manzana, la utilización del caracol como cebo para la pesca deportiva, las embarcaciones y otros medios de transporte, así como las introducciones intencionadas por humanos, son otras vías de dispersión a tener en cuenta para evitar su entrada en zonas libres de la plaga (Rodríguez & Sorolla, 2014).

2.1.1.3 Impactos

El caracol manzana ha invadido diferentes áreas y países, trayendo como consecuencia pérdidas de millones de dólares por la devastación de los arrozales, que constituyen parte primordial de la dieta básica de los habitantes y uno de los ingresos económicos más importantes en las zonas de cultivo (Agrocalidad, 2013).

P. canaliculata puede propagarse con rapidez desde zonas agrícolas en zonas húmedas y otros sistemas de agua dulce naturales donde puede tener graves consecuencias. Estos impactos potenciales podrían implicar la destrucción de la vegetación acuática nativa que conduce a una modificación grave del hábitat, así como también las interacciones competitivas con la fauna acuática nativa, incluyendo caracoles nativos. Ya introducida la plaga, ha sido complicada la disminución de especies nativas de caracoles manzana en el sureste asiático, como consecuencia de las aplicaciones excesivas de plaguicidas contra *P. canaliculata*. Está considerada como una de las 100 especies exóticas más dañinas del mundo (Agrocalidad, 2013).

P. canaliculata alcanza altas densidades y por ello afecta a otros moluscos y especies acuáticas al competir por el alimento y desplazarlos (Rodríguez & Sorolla, 2014). Muchos agricultores utilizan pesticidas para su control. Estos productos, además de ser costosos, provocan la muerte de muchos de los representantes de la fauna propia del ecosistema del arrozal y afectan la salud del hombre (Agrocalidad, 2013).

En el cultivo de arroz, el caracol manzana devora la base de las plántulas de 15 días de edad de trasplante, así mismo las sembradas por semilla de 4 a 30 días, provocando pérdidas económicas en este cultivo (Rodríguez & Sorolla, 2014).

P. canaliculata puede actuar como vector de *Angiostrongylus cantotensis* (gusano pulmonar de la rata) que puede infectar a humanos si es ingerido, ya que causa enfermedades cerebrales como la meningitis eosinofílica. Sin embargo, muchas otras especies de caracoles pueden actuar como vectores y no hay ninguna relación evidente entre la presencia de caracol manzana y la incidencia de la enfermedad (Agrocalidad, 2013).

Muchos países y otras regiones administrativas han desarrollado restricciones cuarentenarias relacionadas con *Pomacea spp.* En algunos casos, estas restricciones se aplican a todos o la mayoría de especies de *Pomacea*, debido a las dificultades para distinguir ellos y porque poco se sabe del potencial de plagas de especies distintas de *P. canaliculata* y *P. insularum* (CABI, 2015).

2.1.1.4 Control Biológico

Ninguno de los depredadores de caracol manzana, en sus áreas de distribución natural ha demostrado jugar un rol significativo en la regulación de la población de caracoles. En el sur este de Asia varios peces, pájaros, ratas, lagartos, cucarachas y hormigas, se sabe que se alimentan de huevos de caracoles. La prevención de la propagación del caracol manzana es la mejor manera de evitar el daño y los costos futuros de los programas de control. El predador más conocido es el gavilán caracolero (*Rostrhamus sociabilis*) que tiene un pico largo, delgado y en forma de gancho que se adaptada para la extracción de caracoles, su presa casi exclusiva (Cowie, 2000).

2.1.1.5 Control Cultural

Arias (2012), recomienda nivelar bien las pozas de arroz antes de la siembra, pues los mayores daños del caracol se presentan en los desniveles o charcos donde la plaga termina con las plantas tiernas de la gramínea, realizar siembras de arroz solo por trasplante, descartando la siembra al voleo. Además se debe coleccionar y destruir las posturas para el ciclo biológico. Algunos agricultores los coleccionan en sacos y los dejan en los muros, esta labor debe ser permanente, debido a que las posturas necesitan radiación solar para su incubación.

Castro (2012), recomienda hacer la recolección manual de caracoles (protegido con guantes), colocarlos en una funda y ponerlos en un terreno seco al sol, donde morirán por deshidratación. No limpiar toda la vegetación de los muros de protección de los arrozales para permitir que los caracoles pongan sus huevos allí y no en las hojas del arroz y así será más fácil la recolección de las posturas.

Ponce (2012), explica que el uso de los molusquicidas no es suficiente para efectuar un control del caracol, ya que debe ir acompañado de labores de campo como nivelación de terrenos, hacer resiembras del arroz en terreno lodoso y aplicar agua solo cuando la planta ya tenga unos 30 días de crecimiento.

2.1.1.6 Control Químico

Vizcaíno (2012), sostiene que lo recomendable es aplicar 3 kg de metaldehídos (molusquicidas) en un grado del 5 % por cada hectárea. Las pruebas con el molusquicida en el porcentaje recomendado no causan daños al medio ambiente. Anteriormente, los agricultores por desconocimiento usaron indiscriminadamente potentes plaguicidas (no molusquicidas) y no solo que mataron caracoles sino insectos beneficiosos que contribuyen a controlar a otras plagas que afectan a los cultivos de arroz.

Varios de los molusquicidas que se han utilizado contra *P. canaliculata*, tales como compuestos orgánicos de estaño, sulfato de cobre y cianamida cálcica, sin embargo estos productos representan grandes riesgos ambientales. Un número de insecticidas se han utilizado contra los caracoles por ejemplo isapophos, cartap and bensultap dando protección contra *P. canaliculata* durante 2 semanas (Asaka & Sato, 1987). El uso de los productos más tóxicos ha sido prohibido en muchos países desde hace algún tiempo, pero muchos productos químicos todavía se utilizan ilegalmente (Cowie, 2002).

2.1.2 Insecticidas a Base de Extractos Botánicos

Los insecticidas orgánicos son preparados a partir de materiales básicos de las hojas, raíces, tubérculos, semillas y frutos, entre los cuales tenemos: hojas: tabaco, albahaca, paraíso, neem, sábila, papaya, ciprés, flor de muerto, orégano, mirto; tubérculos; raíz y frutos: ajo, cebolla, chile picante; semillas y cortezas: semillas de anona, mamey, higuierilla; corteza de eucalipto (Trejo, 2013).

La acción principal de los insecticidas orgánicos es disminuir el efecto dañino que puedan proporcionar las diferentes clases de insectos que atacan los cultivos; ya sea hortalizas, granos básicos y cultivos no tradicionales (Funsalprodese, 2000).

La búsqueda de métodos para la protección natural de cultivos sigue vigente a pesar de que el mercado ofrece una variedad de productos muy amplia. La naturaleza proporciona medios

para la protección de cultivos que merecen nuestra atención. Estos se originan en la riqueza intrínseca de las especies y que surgen de su lucha por la supervivencia. La protección natural de cultivos reduce el riesgo de la resistencia en los insectos, tiene menos consecuencias letales para los enemigos naturales, reduce la aparición de plagas secundarias, es menos nocivo para el hombre, y no ocasiona daños en el medio ambiente (Maggi, 2004).

Como alternativa, los productos naturales provenientes de una gran variedad de plantas, actúan inhibiendo, repeliendo, disuadiendo o eliminando insectos plagas de distinto tipo (rastrosos, voladores, chupadores, defoliadores, etc.) así como también estimulando procesos vitales de los cultivos para fortalecerlos y así protegerse de los ataques de las distintas pestes. Algunas de estas plantas han sido estudiadas científicamente y otras siguen vigentes por leyenda popular (Sánchez, 2002).

Hoyos (2014), señala que la mayoría de las especies de plantas que se utilizan en la protección vegetal exhiben un efecto insectistático más insecticida, es decir, inhiben el desarrollo normal de los insectos. Esto lo pueden hacer de varias maneras:

- **Reguladores de crecimiento:** efecto que se manifiesta de diversas formas. Por un lado, se presentan moléculas que inhiben la metamorfosis, al evitar que esta se produzca en el momento preciso. Otros compuestos hacen que el insecto tenga una metamorfosis precoz y se desarrolle así en una época poco favorable. También se ha observado que determinadas moléculas pueden alterar la función de las hormonas que regulan estos mecanismos, de modo que se producen insectos con malformaciones, estériles o muertos.
- **Inhibidores de la alimentación:** es el modo de acción más estudiado de los compuestos vegetales como insecticidas. Un inhibidor de alimentación es un compuesto que, luego de una pequeña prueba, hace que el insecto se deje de alimentar y muera por inanición. Muchos de los compuestos que muestran esta actividad pertenecen al grupo de los terpenos y se han aislado principalmente de plantas medicinales originarias de África y la India.

- **Repelentes:** el uso de plantas como repelentes es muy antiguo, pero no se le ha brindado la atención necesaria para su desarrollo. Esta práctica se realiza con compuestos que tienen mal olor o efectos irritantes, como el ají y el ajo. Un ejemplo se observa en las prácticas realizadas por indígenas de Costa Rica, que espolvorean con ají los recipientes en los que almacenan maíz y frijol para que no se infesten de plagas.

Los bioinsecticidas actúan más discretamente que los químicos sintéticos, por lo que muchas veces las plagas no se eliminan a la primera aplicación. Los plaguicidas vegetales pierden su efecto pronto, por lo que deben ser aplicados en el momento de su preparación y más frecuentemente que los químicos, su efecto y contenido de los ingredientes activos dependen, entre otros factores, de la especie, época de recolección y variedad de la planta, influencia ambiental (clima, suelo), forma de preparación, extracción y aplicación de estos productos. Aún no se conoce el modo exacto de aplicación de los plaguicidas vegetales. Las desventajas de los insecticidas botánicos son ínfimas en comparación con sus beneficios. Uno de sus inconvenientes es que su uso suele resultar más costoso que el de los insecticidas convencionales, esto se debe al alto costo de producirlos y a la repetición frecuente de las aplicaciones, debido a que el efecto de muchos insecticidas botánicos es de corta duración Martínez, Bernal y Cáceres (2000).

2.1.2.1 Bioinsecticida a Base de Ají (*Capsicum frutescens*)

El ají es una planta bianual de tipo herbáceo adaptada a climas tropicales y templados, utilizada como alimento para humanos, para la fabricación de medicinas y como insecticida. Su ingrediente activo lo constituyen alcaloides que contiene. La preparación del insecticida se puede realizar secando los frutos, en extracción acuosa, en extracto crudo, en pulverización de tejidos (frutos, hojas y tallos). Se puede aplicar al cultivo en espolvoreo o en aspersión. Tiene propiedades repelentes, insecticidas, fungicidas y antivirales contra un amplio rango de plagas (Molina, 1999).

Su principal uso es como condimento o tónico estomacal, siendo México de los principales consumidores. Estas propiedades se deben a la capsicina y a otras sustancias presentes en

menor cantidad en el fruto. La capsicina, palabra derivada del Griego capsia que significa caja, por la forma de caja de la semilla de la pimienta de Cayena (Ciudad de la Guyana Francesa), es una amida fenólica con propiedades anestésicas que no tiene sabor ni olor y que se destaca por ser muy irritante (Rodríguez, 2010).

Su principio insecticida se encuentra distribuido principalmente en el fruto. El chile se ha usado para combatir insectos fitófagos en campo, principalmente hortalizas, y gorgojos en granos almacenados (Rodríguez, 2010).

Esta planta puede controlar plagas masticadoras, chupadoras entre los que se encuentran los pulgones, arañas y gusanos barrenadores; se asocia con el ajo y la cebolla en forma macerada agregándole al jabón de pan para lograr mejor adherencia en las partes aplicadas. Este tipo de líquido muestra una acción repelente ya que el fuerte olor los hace huir antes de atacar el cultivo. El ají actúa por ingestión inhibiendo el apetito de los insectos, ejerciendo una acción insecticida, repelente y antiviral debido a la capsaicina, sustancia alcalina y aceitosa que está presente en la placenta de los frutos brindándole la característica picante en la mayoría de las especies (Fundación Chemonics Colombia, 2003).

Según Solórzano (2000) el ají libera una toxina que actúa como repelente, inhibidor de ingesta e incluso como inhibidor de virus, actúa por ingestión e inhibiendo el apetito de los insectos. Ejerce una acción insecticida, repelente y antiviral. Sus principios activos se presentan mayormente en la cáscara y en las semillas.

El extracto de ají es usado como repelente de contacto para insectos adultos, ovicida y diasuasor de la alimentación (Silva, Lagunes & Rodríguez, 2002). Millán (2008) sostiene que el ají (*Capsicum frutescens*) posee acción antiviral, insecticida y repelente. Se emplea para controlar ácaros, pulgones, hormigas y otros organismos que afectan al follaje. Su principio insecticida se encuentra distribuido principalmente en el fruto, siendo ésta la parte de la planta más comúnmente utilizada, aunque para inhibir el desarrollo de virus se aconseja emplear las hojas y las flores. En este caso, dado que su acción es preventiva, no se logra con el preparado un efecto curativo si el síntoma es muy avanzado.

2.1.2.2 Bioinsecticida de Neem (*Azadirachta indica*)

El extracto de neem es un insecticida botánico obtenido de la planta *Azadirachta indica*. Dado que no afecta significativamente a humanos, mamíferos o insectos beneficiosos, los productores usan el aceite de neem como un insecticida y fungicida para mantener alejadas plagas como los pulgones, mosca blanca, trips, minadores, escarabajo de la patata, nematodos, polilla de la vid, araña roja, ácaros, cochinilla, orugas o gorgojos. El aceite de neem incluso protege los cultivos de infecciones de hongos tales como la roya, botritis y el mildiu. También se usa insecticidas con aceite de neem como repelentes de mosquitos y piojos (Ecoagricultor, 2014).

Para Suquilanda (2006), la elaboración de extractos a base de neem puede utilizar prácticamente todos sus componentes: semilla, cáscara de la semilla y hojas. Controla más de 400 especies de insectos que son afectados por los extractos de este árbol, e incluso aquellos que se han vuelto resistentes a los plaguicidas. Las propiedades de este insecticida están basadas en el parecido que presentan sus componentes con las hormonas reales, de tal forma que los cuerpos de los insectos absorben sus componentes y estas bloquean su sistema endocrino.

El neem hace que el sabor de las plantas sea más amargo para los insectos que las parasitan, así las plagas no las comerán, empleándose como insecticida de contacto. La azadiractina (extracto de las semillas) también interrumpe la transición de los insectos entre sus diferentes estados de metamorfosis, como el paso de larva a crisálida. Impide que los insectos desarrollen un exoesqueleto más duro, y que se reproduzcan. Cuando el aceite es absorbido a través de las raíces de las plantas, actúa como un insecticida sistémico, lo que implica que los cultivos no necesiten ser asperjados constantemente (Ecoagricultor, 2014).

La azadirachtina es un tetraterpenoide característico de la familia Meliaceae pero especialmente del árbol neem (*Azadirachta indica*). Este compuesto se encuentra en la corteza, hojas y frutos de este árbol pero la mayor concentración se ubica en la semilla. En el extracto se han identificado alrededor de 18 compuestos entre los que destacan salanina, meliantrol y

azadiractina que es el que se encuentra en mayor concentración. Muestra acción antialimentaria, reguladora del crecimiento, inhibidora de la oviposición y esterilizante. Hoy en día ya se pueden encontrar formulaciones comerciales de neem con nombres como Neem Gold, Neemazal, Econeem, Neemark, Neemcure y Azatin entre otros, en países como Estados Unidos, India, Alemania y varios países de América Latina (Silva, Lagunes, & Rodríguez, 2002).

Dependiendo también del estado de desarrollo de los insectos afectados, en algunos casos estos prefieren morir que alimentarse de hojas tratadas con neem. La Azadirachtina y sus derivados causan generalmente una inhibición del crecimiento y alteran la metamorfosis. Estas sustancias provocan un desorden hormonal en diferentes etapas en el desarrollo del proceso de crecimiento del insecto, influyendo las hormonas de la muda y la juvenilidad. Así los insectos no son capaces de desarrollarse de una manera normal y resultan deformaciones de la piel, de las alas, patas y otras partes del cuerpo (Londoño, 2006).

La mayoría de los efectos se pueden notar en los estados larvales, ya que son los estados de los insectos que más se alimentan de las sustancias tratadas con el neem. La Azadirachtina también puede reducir la fecundidad de las hembras y causar la esterilidad parcial o total de los huevos. Este efecto también se debe a cambios en equilibrio hormonal. El aceite, parte importante de los productos del neem, inhibe la deposición de los huevos y lleva a una alteración del comportamiento de varios insectos (Londoño, 2006).

Massaguni (2011), investigó la toxicidad de hojas y semillas de neem contra caracoles pequeños (10-20mm) y grandes (20-40mm) incorporando extractos en plántulas de arroz como fuente de alimento, de los cuales el extracto a partir de hojas demostró ser el más efectivo en comparación con las semillas, causando alta tasa de mortalidad después de 96 horas con el 93,33% y el 84,17% en comparación con el 71,67% y el 73,33% para los diferentes tamaños de caracol manzana. Los resultados de este estudio sugieren que el extracto acuoso de la planta neem puede ser utilizado para el control de caracol de la manzana, y su aplicación puede proporcionar una forma alternativa para el control de plagas sostenible en campo de arroz.

2.1.3 Extractos con Actividad Molusquicida

Consciente de los riesgos de toxicidad de los molusquicidas sintéticos, la comunidad científica ha llevado a cabo trabajos para utilizar las propiedades naturales del reino de las plantas con el fin de resolver el problema de *P. canaliculata* (Ochoa & García, 2012).

Blumea balsamifera, *Jatropha menispermum*, *Nicotiana tabacum*, *Derris philippinensis*, *Tinospora rumphii* y *Capsicum frutescens* son plantas tóxicas para los caracoles (70 - 100% de mortalidad). Se han evaluado muchas especies de plantas. Entre estas, el neem resultó altamente tóxico para los caracoles y fue elegido para ser investigado con más detalle debido a su amplia presencia a lo largo de los arroyos y en los bosques secundarios en altitud baja y media. Además, el Neem, ha sido objeto de estudio científico como una fuente de productos naturales para el manejo integrado de plagas; Schmutter revisó la eficacia de diferentes derivados de neem contra los moluscos (Hoyos, 2014).

Muley (2005), señaló que la mortalidad del 100% del caracol *Melania scabra* se produjo en 20 minutos cuando se tratan con extracto al 0,5% de polvo seco de semillas de neem. Extractos de la semilla de neem resultaron igualmente tóxicos contra *Biomphalaria glabrata*. Las especies de moluscos *Lymnealuteola* y *Gyraulus convexiusculus* fueron tratadas con hojas secas, alcanzando la mortalidad en 24 horas. Las hojas, corteza y frutos también fueron probados en contra otros moluscos consiguiendo resultados exitosos.

Maini y Rejesus (2003) probaron extractos acuosos de hojas, semillas de neem, y aceite de neem contra *P. canaliculata*, los extractos de semillas y hojas fueron los más tóxicos causando el 100% de mortalidad a 100ppm después de 48 horas. Los efectos de los tratamientos en base de neem sobre la ecología de los caracoles todavía están siendo investigados. El extracto acuoso de semillas de neem fue probado contra caracoles de agua dulce con y sin opérculo (Ochoa & García, 2012).

2.1.4 Ventajas y Desventajas del Uso de Bioinsecticidas

Montesino et al (2009), señalan varias ventajas de los bioinsecticidas como:

- Compatibilidad con otras alternativas para el manejo de plagas (feromonas, hongos entomopatógenos, depredadores y parasitoides, entre otros)
- Reducen el riesgo de resistencia en los insectos
- Menor toxicidad a los enemigos naturales de las plagas
- Reducen la aparición de plagas secundarias
- Biodegradables y con menor riesgo de residuos en los alimentos
- Minimizan los riesgos para la salud humana y animal, y los daños al medio ambiente
- Muchos de estos compuestos no son tóxicos para las plantas
- Son conocidos por el agricultor
- Material renovable, de alta disponibilidad y bajos costos

Los autores mencionados destacan las siguientes desventajas:

- No todos son propiamente insecticidas, lo que los hace tener una acción más lenta
- Su efecto residual es bajo
- No todos los insecticidas vegetales son menos tóxicos que los sintéticos

- Carencia de regulaciones para su uso
- No todas las recomendaciones han sido validadas con rigor científico
- Poca información en pruebas toxicológicas
- Variabilidad en la cantidad del compuesto activo
- Problemas de estabilidad en los extractos
- Mayor requerimiento de mano de obra calificada

2.1.5 Metaldehído como Molusquicida

El único molusquicida de importancia toxicológica práctica para especies de interés veterinario es el metaldehído, usado generalmente como pellet o polvo para el control de babosas y caracoles. Se trata de un polímero de acetaldehído que resulta venenoso sólo por vía oral. El metaldehído para uso doméstico se encuentra en concentración de 3 a 3,5% y para uso agrícola de 6%. La palatabilidad del cebo de metaldehído es alta, por lo que puede intoxicar especialmente a las pequeñas especies en la temporada invernal, cuando aparecen caracoles y babosas en los jardines; aunque con escasa frecuencia, el producto también ha causado intoxicación a equinos y rumiantes, al utilizarse para el control de caracoles y babosas en potreros (Pino, 2015).

Se presenta en forma de cebos granulados o "Pellets" de tamaño apropiado e idóneo para ser distribuido de forma homogénea por el suelo y conseguir la máxima eficacia en su aplicación. Se recomienda esparcir por toda el área cultivada y especialmente en zonas frecuentadas por caracoles y babosas, es decir, zonas húmedas y próximas a paredes y malezas. Es insoluble en agua, por lo que una lluvia acaecida después de su aplicación no obliga a realizar un nuevo tratamiento, no obstante resulta más eficaz realizar la distribución del producto después de una lluvia o riego (La Tienda del Agricultor, 2014).

CAPÍTULO III

METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

3.1 Localización

La presente investigación se llevó a cabo durante el mes de junio del 2015 en el laboratorio de microbiología del Campus Manuel Haz Álvarez de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo ubicado en la Av. Quito km. 1 ½ vía Quevedo – Santo Domingo de los Tsáchilas, entre las coordenadas 1°00'45.3"S 79°28'08.9"W.

3.2 Tipo de Investigación

Se efectuó una investigación de tipo experimental, manejando diferentes tratamientos para la identificación del bioinsecticida más eficaz para el control o disminución del ataque de *P. caniculata*.

3.3 Métodos de Investigación

Para este proyecto se partió de información existente en libros e internet sobre los beneficios de la utilización de extractos de neem y ají para el control de plagas, para de este modo identificar concretamente el efecto de éstos sobre *P. caniculata* (método deductivo).

3.4 Fuentes de Recopilación de Información

Para el presente proyecto se recopiló información de fuentes primarias mediante la observación directa mediante el experimento y evaluación de distintas variables dependientes, además se recurrió a fuentes secundarias como libros, publicaciones, revistas e internet.

3.5 Instrumentos de Investigación

3.5.1 Tratamientos Estudiados

T₁: Neem (125 cc/l)

T₂: Neem (175 cc/l)

T₃: Ají (100 cc/l)

T₄: Ají (150 cc/l)

T₅: Metaldehído

T₆: Testigo

3.5.2 Manejo del Experimento

Luego de elaborar la cantidad necesaria de los extractos de ají y neem a utilizarse, se recolectaron caracoles en etapa adulta y se colocaron con el alimento en cajas de poliestireno (10 especímenes por cajas) con tapas ventiladas.

Como alimento se les proporcionó lechuga (*Lactuca sativa*), la misma que se pesó al momento de dársela a los caracoles y después de 24 horas cuando se realizó el cambio de alimento.

La aplicación de los tratamientos en las dosis establecidas, se hizo sobre el alimento y luego de 24 horas se realizó una nueva aplicación.

Posteriormente a las aplicaciones, se registró los eventos durante 24 horas y se mantuvo los caracoles en confinamiento por 4 semanas, tiempo en el cual se evaluó su comportamiento (consumo de alimento, mortalidad, ovipostura).

3.6 Diseño Experimental y Análisis Estadístico

En esta investigación se utilizó un Diseño Completamente Aleatorio con seis tratamientos en cuatro repeticiones, considerando como unidad experimental una caja de poliestireno con 10 especímenes dentro.

Todas las variables en estudio se sometieron al análisis de varianza (tabla 1); se utilizó la prueba de Duncan al 95 % de probabilidad para establecer la diferencia entre las medias de los tratamientos, mientras que para el análisis estadístico se usó Infostat.

Tabla 1: Esquema del análisis de varianza

Fuentes de variación	Grados de libertad
Tratamientos	5
error	18
Total	23

3.7 Datos Registrados y Forma de Evaluación

3.7.1 Número de Caracoles Muertos

Se contabilizó el número de caracoles cada 24 horas después del cambio de alimento impregnado con bioinsecticidas para finalmente hallar el total de especímenes muertos en cada uno de los tratamientos aplicados durante el periodo del ensayo.

3.7.2 Número de Caracoles Vivos

En cada tratamiento se contabilizó el número total de caracoles vivos luego de la aplicación de los tratamientos.

3.7.3 Peso en Gramos de Alimento Consumido

Se registró el peso del alimento consumido en gramos cada 24 horas y posteriormente se obtuvo el promedio por 10 días que duro el experimento.

3.7.4 Número de Postura de Huevos

Se contabilizó las oviposturas de los caracoles objeto de estudio al final del ensayo en cada caja (unidad experimental) para medir el efecto de los tratamientos sobre ellas.

3.8 Recursos Humanos y Materiales

3.8.1 Bioinsecticida de Ají

Materiales: 500 gramos de ají, 5 litro de alcohol, 1 botella plástica.

Procedimiento: Se cortaron y machacaron 500 gramos de ají de gallinazo, se colocaron en una botella con 5 litros de alcohol, y se dejó macerar por 24 horas. Finalmente se filtró con la ayuda de una tela fina para quedar listo para su aplicación.

3.8.2 Bioinsecticida de Neem

Materiales: 500 gr de hojas de neem, 5 litros de alcohol, 1 botella plástica

Procedimiento: Se trituraron 500g hojas de neem en 5 litros de alcohol y se dejó reposar por 15 días, luego se filtró con una tela quedando listo para su aplicación.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Resultados

4.1.1 Número de Caracoles Vivos

En la tabla 2, se muestran los promedios de número de caracoles vivos, de acuerdo al análisis de varianza los tratamientos en estudio alcanzaron alta significancia estadística, siendo el coeficiente de variación 14.7 %.

El testigo presentó el mayor número de caracoles vivos con 9.0, estadísticamente superior a los demás tratamientos que registraron entre 0.0 y 5.7 caracoles vivos.

Tabla 2: Número de caracoles vivos en el estudio sobre el efecto de extractos botánicos a base de ají (*Capsicum frutescens*) y neem (*Azadirachta indica*) sobre el caracol manzana (*Pomacea canaliculata*).

Tratamientos	Numero de caracoles vivos *
T ₁ : Neem (125 cc/l)	5.7 b
T ₂ : Neem (175 cc/l)	5.0 b
T ₃ : Ají (100 cc/l)	5.7 b
T ₄ : Ají (150 cc/l)	2.5 c
T ₅ : Metaldehído	0.0 d
T ₆ : Testigo	9.0 a
Promedio	4.7
Coefficiente de variación (%)	14.7

* Promedios con la misma letra no difieren estadísticamente según la prueba de Duncan al 95 % de probabilidad.

4.1.2 Número de Caracoles Muertos

El promedio del número de caracoles vivos, se presentan en la tabla 3. El análisis de varianza presentó alta significancia estadística para los tratamientos, con un coeficiente de variación de 12.9 %.

Tabla 3: Número de caracoles muertos en estudio sobre el efecto de extractos botánicos a base de ají (*Capsicum frutescens*) y neem (*Azadirachta indica*) sobre el caracol manzana (*Pomacea canaliculata*).

Tratamientos	Numero de caracoles muertos *
T ₁ : Neem (125 cc/l)	4.3 c
T ₂ : Neem (175 cc/l)	5.0 c
T ₃ : Ají (100 cc/l)	4.3 c
T ₄ : Ají (150 cc/l)	7.5 b
T ₅ : Metaldehído	10.0 a
T ₆ : Testigo	1.0 d
Promedio	5.3
Coeficiente de variación (%)	12.9

* Promedios con la misma letra no difieren estadísticamente según la prueba de Duncan al 95 % de probabilidad.

Con la aplicación de Metaldehído se registró el mayor número de caracoles muertos 10.0 (100 % de mortalidad), superior estadísticamente a los demás tratamientos que presentaron promedios entre 1.0 y 7.5.

4.1.3 Peso de Alimento Consumido (g)

El promedio correspondiente al peso de alimento consumido (g) se presentan en la tabla 4. Efectuado el análisis de varianza se observó que los tratamientos alcanzaron alta significancia estadística, siendo el coeficiente de variación 21.7 %.

Tabla 4: Peso promedio de alimento consumido en estudio sobre el efecto de extractos botánicos a base de ají (*Capsicum frutescens*) y neem (*Azadirachta indica*) sobre el caracol manzana (*Pomacea canaliculata*).

Tratamientos	Peso de alimento consumido * (g)
T ₁ : Neem (125 cc/l)	3.7 b
T ₂ : Neem (175 cc/l)	2.3 c
T ₃ : Ají (100 cc/l)	3.6 b
T ₄ : Ají (150 cc/l)	2.5 c
T ₅ : Metaldehído	1.3 d
T ₆ : Testigo	6.4 a
Promedio	3.3
Coefficiente de variación (%)	21.7

* Promedios con la misma letra no difieren estadísticamente según la prueba de Duncan al 95 % de probabilidad.

El tratamiento 6 (Testigo), registró la mayor cantidad de alimento consumido con 6.4 g, estadísticamente superior a los demás tratamiento que presentaron promedios entre 1.3 y 3.7 gramos.

4.1.4 Número de Oviposturas

En la tabla 5, se muestran los promedios correspondientes en oviposturas. De acuerdo al análisis de varianza los tratamientos alcanzaron alta significancia estadística, siendo el coeficiente de variación 41.1 %.

Tabla 5: Oviposturas realizadas en estudio sobre el efecto de extractos botánicos a base de ají (*Capsicum frutescens*) y neem (*Azadirachta indica*) sobre el caracol manzana (*Pomacea canaliculata*).

Tratamientos	Numero de oviposturas*
T ₁ : Neem (125 cc/l)	1.8 b
T ₂ : Neem (175 cc/l)	1.0 bc
T ₃ : Ají (100 cc/l)	1.5 b
T ₄ : Ají (150 cc/l)	0.5 cd
T ₅ : Metaldehído	0.0 d
T ₆ : Testigo	3.5 a
Promedio	1.4
Coefficiente de variación (%)	41.1

* Promedios con la misma letra no difieren estadísticamente según la prueba de Duncan al 95 % de probabilidad.

El tratamiento 6 (Testigo), presentó la mayor cantidad de oviposturas con 3.5, superior estadísticamente a los demás tratamiento que registraron entre 0.0 y 1.8 oviposturas.

4.2 Discusión

El mayor porcentaje de mortalidad se produjo con el metaldehído 100% utilizado a manera de cebo esparcido en la unidad experimental presentando mayor efectividad en el control concordando con La Tienda del Agricultor (2014), que sostiene que el metaldehído se presenta en forma de cebos granulados de tamaño apropiado e idóneo para ser distribuido de forma homogénea por el suelo y conseguir la máxima eficacia en su aplicación contra esta plaga. El extracto botánico más eficaz fue el ají en dosis de 150 cc/l, con una tasa de mortalidad del 75 %, solo 25% menor que el metaldehído lo que corrobora lo expuesto por Martínez, Bernal & Cáceres (2000) que afirman que los insecticidas botánicos al tener una actividad discreta, muchas veces no eliminan las plagas a las primeras aplicaciones, en base a esto se puede afirmar que para obtener un mayor índice de mortalidad sería necesario un mayor número de aplicaciones de extracto de ají.

El neem en dosis de 175 cc/l reflejó una tasa de mortalidad del 50 %, siendo un valor aceptable para llevarlo a pruebas en campo abierto como alternativa para control de *P. canaliculata* concordando con Maini y Rejesus (2003) que probaron extractos acuosos de hojas, semillas de neem, y aceite de neem contra *P. canaliculata*, los extractos de semillas y hojas fueron los más tóxicos causando el 100% de mortalidad a 100ppm después de 48 horas. Los efectos de los tratamientos en base de neem sobre la ecología de los caracoles todavía están siendo investigados. La baja tasa de mortalidad en comparación con otros autores se puede deber a la concentración de neem y el empleo solo de hojas.

Se observó superioridad en un 25% del ají con respecto al neem, para el control de caracol manzana, concordando con Hoyos (2014), quien incluye al ají entre las plantas con mayor tasa de mortalidad (70 – 100%) sobre especies de caracoles.

Respecto a la cantidad de alimento diario consumido por los caracoles en los tratamientos q se aplicó ají y neem fue de 3.3g/día menor que el testigo sin aplicación. Con la aplicación de metaldehído el consumo fue mínimo debido al efecto destructivo del químico en el caracol. El tratamiento con Metaldehído que por ser un cebo específico para molusco registró el menor

peso consumido, sin embargo los valores obtenidos mediante aplicaciones de dosis altas de ají y neem (150 cc/l y 175 cc/l) redujeron a 2.5 y 2.3, los cuales no difirieron estadísticamente entre sí, pero la ligera ventaja del neem se puede deber a que este vuelve plantas más amargas, concordando con el sitio Ecoagricultor (2014), que sostiene que el neem hace que el sabor de las plantas sea más amargo para los insectos que las parasitan, así las plagas no las comerán, empleándose como insecticida de contacto, mientras que el bioinsecticida de ají presenta un fuerte olor, puede repeler a los caracoles para que estos no consuman el tejido de las plantas, concordando con Fundación Chemonics Colombia (2003), que afirma que el ají actúa por ingestión inhibiendo el apetito de los insectos, ejerciendo una acción insecticida y repelente debido a la capsaicina, brindándole la característica picante en la mayoría de las especies.

El metaldehído al causar la muerte de todos los caracoles en estudio, no presentó oviposturas; mientras los bioinsecticidas aplicados en dosis altas (neem: 175 cc/l y ají: 150 cc/l), presentaron 2.5 y 2.0 oviposturas menor con neem y ají, respectivamente, afectando a la oviposición de los caracoles, concordando con Silva, Lagunes, & Rodríguez (2002), que sostienen que el neem muestra acción antialimentaria, reguladora del crecimiento, inhibidora de la oviposición y esterilizante, y además afirman que el extracto de ají es usado como repelente de contacto para insectos adultos, ovicida y diasuasor de la alimentación. Por lo tanto estos biopreparados se pueden considerar como una alternativa de bajo impacto ambiental para el control de *P. canaliculata*.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones

- El metaldehído produjo 100% de mortalidad en los caracoles (100%) debido al ingrediente químico que actúa con mayor efectividad.
- La dosis de 150 cc/l de extracto de ají produjo una mortalidad de 75 % en los caracoles.
- Aplicando extracto de ají en dosis de 150 cc/l se disminuyó considerablemente el consumo de alimento de los caracoles y disminuyó la oviposición.
- Al incrementar las dosis de los extractos en estudio se produjo mayor mortalidad y se mermó el consumo de alimento significativamente.

5.2 Recomendaciones

- Estudiar la frecuencia de aplicación de los bioinsecticida estudiados para el control caracol manzana.
- Realizar investigaciones en campo abierto con nuevas dosis e incluir otros extractos botánicos para medir su eficiencia en el control del caracol manzana.
- Llevar a cabo un análisis económico de los tratamientos estudiados aplicado en un cultivo.
- Considerar el control químico como última alternativa para el caracol manzana.

CAPÍTULO VI

BIBLIOGRAFÍA

6.1 Bibliografía Citada

- Agrocalidad. (2013). *Pomacea canaliculata* (Lamarck, 1828). Obtenido de http://www.agrocalidad.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2013/08/caracol_manzana.pdf
- Arias, M. (2012). Control de caracoles en el arroz. Revista informativa INIAP, EC. N° 6. Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias.
- Asaka, A., & Sato, Y. (1987). Feeding inhibitory efficiency of cartap and bensultap against the apple snail, *Pomacea canaliculata*. Japanese Journal of Applied Entomology and Zoology 31(4):339-343.
- CABI. (2015). *Pomacea canaliculata*. Obtenido de <http://www.cabi.org/isc/datasheet/68490>
- Cañedo, V., Alfaro, A., & Kroschel, J. (2011). Principios y referencias técnicas para la Sierra Central de Perú. Obtenido de Manejo integrado de las plagas de insectos en hortalizas: <http://nkxms1019hx1xmtstxk3k9sko.wpengine.netdna-cdn.com/wp-content/uploads/2013/08/005739.pdf>
- Carreón, P. (2003). Desarrollo morfológico e histológico del sistema reproductor de *Pomacea patula catemacensis* (Mollusca, *Caenogastropoda Ampulariidae*). Revista Chilena de Historia Natural, 16(4), 665-680.
- Castro, L. (2012). En los arrozales los agricultores ignoran cómo controlar al caracol manzana. Obtenido de <http://www.andes.info.ec/es/econom%C3%ADa-videos/4914.html>
- Cowie, R. (2000). Invasive species in the Pacific: A technical review and draft regional strategy. Non-indigenous land and freshwater molluscs in the islands of the Pacific: conservation impacts and threats. . Obtenido de http://www.issg.org/database/reference/Invasive_strategy_and_species.pdf
- Cowie, R. (2002). Apple snails (*Ampullariidae*) as agricultural pests: their biology, impacts and management. Molluscs as crop pests. 145-192.
- Díaz, M. (2011). Insecticida de ají y barbasco. Obtenido de <http://marthali-abonosorganicos.blogspot.com/2011/08/insecticida-de-aji-y-barbasco.html>
- Díaz, M. (2011). Insecticida de ají y barbasco. Obtenido de <http://marthali-abonosorganicos.blogspot.com/2011/08/insecticida-de-aji-y-barbasco.html>
- Díaz, P. (2014). Manejo integrado del caracol manzana (*Pomacea canaliculata*) en el cultivo de arroz bajo riego, en la zona de Simón Bolívar provincia del Guayas. Obtenido de <http://dspace.utb.edu.ec/bitstream/49000/559/6/T-UTB-FACIAG-AGR-000091.pdf>

- Ecoagricultor. (2014). Tratamientos ecológicos contra pulgones, mosca blanca, araña roja, cochinillas, y otras plagas. Obtenido de <http://www.ecoagricultor.com/el-neem-para-repeler-y-combatir-plagas-en-el-huerto-ecologico/>
- Fernández, P. (2009). Bioinsecticidas. Obtenido de <http://es.slideshare.net/cephasx/bioinsecticidas>
- FONAG. (2010). Abonos orgánicos protegen el suelo y garantizan alimentación sana. Obtenido de http://www.fonag.org.ec/doc_pdf/abonos_organicos.pdf
- Fundación Chemonics Colombia. (2003). Manual de Fitoprotección y Analisis de plaguicidas. Colombia.
- Funsalprodese. (2000). Elaboración de plaguicidas organicos. Obtenido de http://funsalprodese.org.sv/pdf/boletines_informativos/Plaguicidas_organicos.pdf
- Greenpeace. (2015). Agricultura ecológica . Obtenido de <http://www.greenpeace.org/espana/es/Trabajamos-en/Transgenicos/Soluciones-y-demandas/Agricultura-ecologica/>
- Hayes, K., Joshi, R., Thiengo, S., & Cowie, R. (2008). Out of South America: multiple origins of non-native apple snails in Asia. *Diversity and Distributions*, 14(4):701-712.
- Hayes, K., R. C., & Thiengo, S. (2009). A global phylogeny of apple snails: Gondwanan origin, generic relationships and the influence of outgroup choice (Caenogastropoda: Ampullariidae). *Biological Journal of the Linnean Society*, 98:61-76.
- Hoyos, E. (2014). Toxicidad del extracto metanólico de ají por ingestión del caracol manzana (*Pomacea canaliculata*) en el cultivo de arroz. Trabajo de Titulación. Machala - Ecuador: Universidad Técnica de Machala.
- INIAP. (2014). Guía práctica para la elaboración de abonos orgánicos y bioinsecticidas botánicos. Boletín Divulgativo N° 435. Ecuador. 22p.
- ISSG. (2005). *Pomacea canaliculata* (mollusc). Obtenido de <http://www.issg.org/database/species/ecology.asp?si=135&fr=1&sts=sss&lang=EN>
- La Tienda del Agricultor. (2014). Metaldehído 5% (1 Kg). Obtenido de <http://www.latienda.delagricultor.com/insecticida/105-metaldehido-5-1kg.html>
- Londoño, D. (2006). Manejo integrado de plagas - Insecticidas botánicos. Obtenido de <http://www.monografias.com/trabajos36/insecticidas-botanicos/insecticidas-botanicos2.shtml>
- Maggi, M. E. (2004). Insecticidas naturales. Obtenido de <http://www.rapaluruquay.org/organicos/articulos/InsecticidasNaturales.pdf>

- Massaguni, R. (2011). Neem crude extract as Biomolluscicide for sustainable control of golden apple snail, *Pomacea canaliculata*. Obtenido de <http://ieeexplore.ieee.org/iel5/5955057/5977077/05977097.pdf?arnumber=5977097>
- Millán, C. (2008). Las plantas una opción saludable para el control de plagas. Uruguay: Red de Acción en Plaguicidas y sus Alternativas para América Latina.
- Molina, M. (1999). Evaluacion de insecticidas botanicos, biologicos y sinteticos sobre *Trichogramma pretiosum*, *Diadegma insulare*, *Chrysoperla carnea* E *Hippodamia convergens*. Obtenido de <http://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/2818/1/T1045.pdf>
- Ochoa, L., & García, J. (2012). Determinación de la actividad molusquicida de dos extractos vegetales sobre caracol manzana (*Pomacea canaliculata*) y impacto en la diversidad de artrópodos. Obtenido de <https://www.dspace.espol.edu.ec/bitstream/123456789/21123/1/TESIS%20CD%20-%20OCHOA%20Y%20GARCIA.pdf>
- Pino, K. (2015). Molusquicidas (Metaldehído). Obtenido de <http://www.ropana.cl/toxivet/Molusquicidas.htm>
- Ponce, J. (2012). Ministerio de Agricultura aprueba uso de molusquicida para controlar al caracol que afecta arrozales. Obtenido de <http://www.andes.info.ec/es/econom%3%ADa/5319.html>
- Rodríguez, C. (2010). El chile como remedio contra plagas. Obtenido de http://www.caata.org/el_chile_como_remedio_contra_plagas.html
- Rodríguez, E., & Sorolla, A. (2014). El caracol manzana: *Pomacea maculata* y *Pomacea canaliculata*. Obtenido de http://www.aragon.es/estaticos/GobiernoAragon/Departamentos/AgriculturaGanaderiaMedioAmbiente/AgriculturaGanaderia/Areas/03_Sanidad_Vegetal/01_Protecci%C3%B3n_Vegetal/cpv_ana__documentos/Caracol_manzana.pdf
- Sánchez, T. (2002). Contaminación del suelo y lucha biológica. Obtenido de <http://www.corazonverde.org/proyectos/ecojardin.html>
- Silva, G., Lagunes, A., & Rodríguez, J. (2002). Insecticidas vegetales: Una vieja-nueva alternativa en el control de plagas. . Revista Manejo Integrado de Plagas (CATIE).
- Solórzano, R. (2010). Métodos no tóxicos para el control de plagas agrícolas . Santo Domingo - República Dominicana: Ponencia en Foro Regional de Agricultura Orgánica.
- Suquilanda, M. (2006). Agricultura Orgánica. Quito - Ecuador: UPS.

Trejo, J. (2013). Insecticidas biológicos u orgánicos. Obtenido de <http://es.slideshare.net/JorgeTrejoCanelo/insecticidas-biologicos-u-organicos>

Vizcaíno, D. (2012). Ministerio de agricultura Ministerio de Agricultura aprueba uso de molusquicida para controlar al caracol que afecta arrozale. Obtenido de <http://www.andes.info.ec/es/econom%C3%ADa/5319.html>

CAPÍTULO VII

ANEXOS

Anexo 1: Análisis de varianza de número de caracoles vivos

Fuentes de Variación	Grados de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrados Medios	F	p-valor
Tratamientos	5	190.8333	38.1667	80.8235	<0.0001 **
error	18	8.5000	0.4722		
Total	23	199.3333			

** : Altamente Significativo; * : Significativo; NS: No Significativo

Anexo 2: Análisis de varianza de número de caracoles muertos

Fuentes de Variación	Grados de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrados Medios	F	p-valor
Tratamientos	5	190.8333	38.1667	80.8235	<0.0001 **
error	18	8.5000	0.4722		
Total	23	199.3333			

** : Altamente Significativo; * : Significativo; NS: No Significativo

Anexo 3: Análisis de varianza de peso consumido (g).

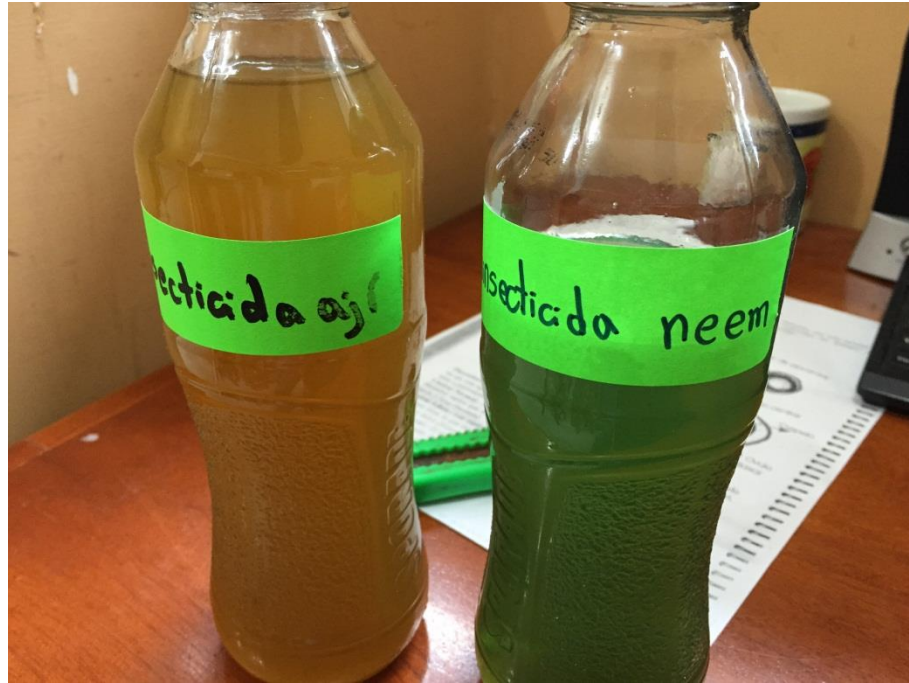
Fuentes de Variación	Grados de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrados Medios	F	p-valor
Tratamientos	5	63.2700	12.6540	25.0437	<0.0001 **
error	18	9.0950	0.5053		
Total	23	72.3650			

** : Altamente Significativo; * : Significativo; NS: No Significativo

Anexo 4: Análisis de varianza de oviposturas

Fuentes de Variación	Grados de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrados Medios	F	p-valor
Tratamientos	5	29.8750	5.9750	18.7043	<0.0001 **
error	18	5.7500	0.3194		
Total	23	35.6250			

** : Altamente Significativo; * : Significativo; NS: No Significativo



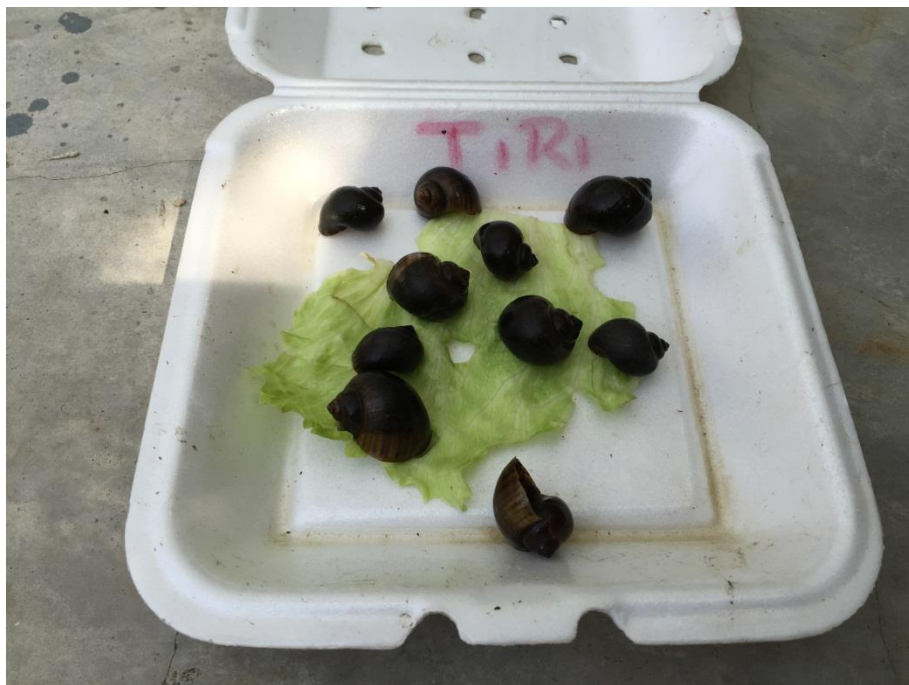
Anexo 5: Bioinsecticidas de neem y ají usados en el ensayo.



Anexo 6: Unidades experimentales del ensayo.



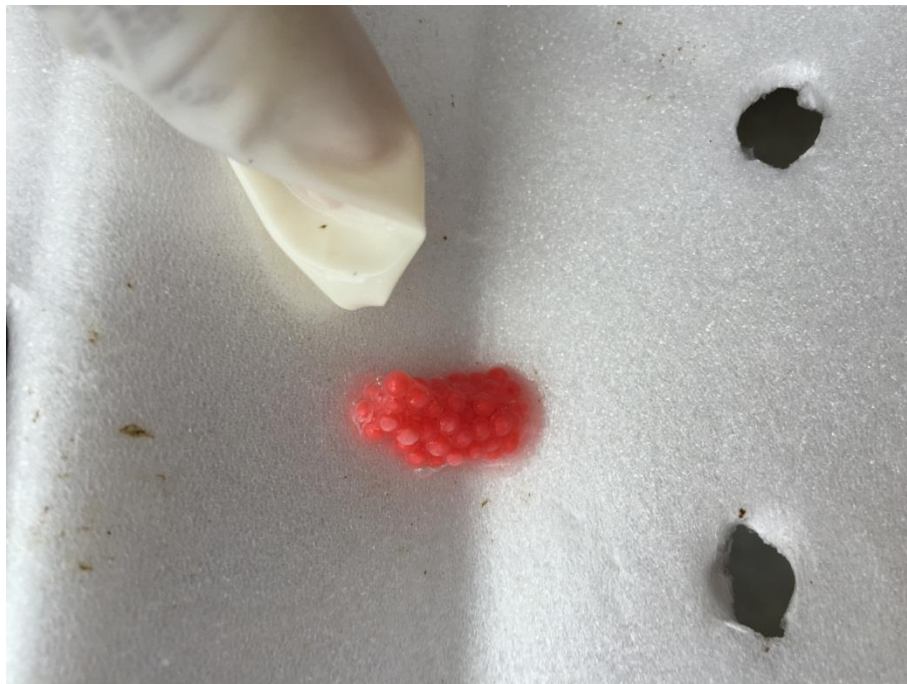
Anexo 7: Especímenes de caracol manzana recién recolectadas.



Anexo 8: Adición de alimentos a las unidades experimentales.



Anexo 9: Limpieza de las unidades experimentales



Anexo 10: Ovipositoras de *P. caniculata*